UNTERSUCHUNGEN ZUR EINWIRKUNG VON HALOPERIDOL AUF DIE IMMUNREAKTION IN-VITRO

Kurt Baumgartner

1981

Aus der Psychiatrischen Klinik der Universität München
(Leiter: Prof. Dr. Hanns Hippius),
aus dem Institut für Medizinische Virologie und Immunologie,
Abteilung Immungenetik, Universitätsklinik Essen-GHS
(Leiter: Prof. Dr. Hans Grosse-Wilde)

UNTERSUCHUNGEN ZUR EINWIRKUNG VON HALOPERIDOL AUF DIE IMMUNREAKTION IN-VITRO

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität in München

vorgelegt von

Kurt Baumgartner

aus

Ingolstadt

1980

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof.Dr. Grosse-Wilde
Mitberichterstatter :	Prof.Dr. Hippius
Dekan :	Prof.Dr. Spann
Tag der mündlichen Prüfung :	20.10.1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde unter Leitung von Prof.Dr. H.Hippius der Universitätsklinik für Psychiatrie und Prof. Dr.H.Grosse-Wilde des Instituts für medizinische Immunologie und Virologie in Essen ausgeführt.

Herrn Prof. Dr.H.Hippius danke ich für die großzügige Überlassung des Themas und Förderung meiner Arbeit, sowie Herrn Prof. Dr. H.Grosse-Wilde für seine zahlreichen Anregungen, immmer hilfsbereiten Anleitungen und umfassenden Korrekturen.

Desgleichen gilt mein Dank den medizinisch-technischen Assistentinnen Frau Sylvia Kowalev, Fräulein Ursula Ettner und Fräulein Marianne Schiefer für deren freundliche Einführung und Unterstützung in die Arbeitsmethoden, sowie Fräulein Ulla Vierheilig für umfangreiche Schreibarbeiten.

Gliederung

	Seite
1 Einleitung und Darstellung der Problematik	4
2 Krankengut	7
3 Kollektivierung und Aufarbeitung der Blutproben	8
3.1. Abnahmetechnik der Blutproben	8
3.2. Separation von Lymphozyten aus Vollblut	8
3.3. Kryokonservierung von Lymphozyten	10
4 Lymphozytenstimulation in-vitro	12
4.1. Darstellung der eingesetzten Mitogene	12
4.2. Lyophilisierung der Mitogene	15
4.3. Auftauvorgang der kryokonservierten Lymphozyten	16
4.4. Anlage der Lymphozytenkulturen in Mitogenplatten	17
4.5. Inkubation und Markierung mit H3-Thymidin	18
4.6. Ernten der radioaktiv markierten Zellkulturen	18
4.7. Bestimmung der H3-Thymidin-Einbaurate und Computerauswertung	19
5 Auswertung und Diskussion der Ergebnisse	21
5.1. Arbeitstechnische Daten	21
5.2. Besprechung der Resultate	22
5.2.1. Normalkollektiv	22
5.2.2. Haloperidol-Gruppe	26
5.2.2.1. Vorstellung des Neuroleptikums Haloperidol	26
5.2.2.2. Diskussion der Mitogenstimulationen	27
5.2.2.3. Einfluß der Haloperidol-Dosierung	32
5.2.3. Gemeinsame Besprechung der Haloperidol/Taxilan-Gruppe bzw. Haloperidol/Neurocil-Gruppe	34
5.2.3.1. Vorstellung der Neuroleptika Taxilan bzw. Neurocil	34
5.2.3.2. Diskussion der Haloperidol/Taxilan-Gruppe	37

Seite

5.2.3.3. Diskussion der Haloperidol/ Neurocil-Gruppe 38
5.3. Diskussion der Variablen 39
5.3.1. Verfahrenstechnische Variable 39
5.3.1.1. Zeitpunkt der Verarbeitung der Blutproben 39
5.3.1.2. Variationen beim Einfrier- und Auftauvorgang 39
5.3.2. Alter der Patienten 40
5.3.3. Circadiane Rhythmen der Lymphozytenstimulation 40
5.3.4. Zusätzliche Medikation 41
6 Zusammenfassung 42
7 Anhang: Diagramme sämtlicher Mitogenstimulationen 45
8 Literaturverzeichnis 76
9 Lebenslauf 82

1. Einleitung und Darstellung der Problematik

Nahezu jede therapeutische Handlung des Arztes am kranken Menschen, sei sie chirurgischer, internistischer oder psychotherapeutischer Art, hat neben der gewünschten Wirkung Nebenreaktionen zur Folge, die sich nicht immer hinsichtlich des Therapieerfolges neutral verhalten. Dies gilt besonders für den Einsatz von Medikamenten am Patienten, wo man seit geraumer Zeit bemüht ist, die Nebenwirkungen einer ärztlichen Droge zu objektivieren.

Neben den Fragen der grundsätzlichen Toxizität und/oder Kanzerogenität eines Medikaments, die gewöhnlich im Tierexperiment untersucht werden, tritt in den letzten Jahren die Frage in den Vordergrund, inwieweit ein Medikament mit den physiologischen Reaktionen des menschlichen Immunapparates interferiert.
Abgesehen von den klassischen immunsuppressiven Medikamenten, wie Corticosteroiden (8, 20), Azathioprin (1, 46) und Antilymphozytenserum (16, 43), deren immunsuppressiver Effekt ja gewünschte Wirkung und nicht Nebenreaktion ist, beschränken sich bisher systematische Untersuchungen über eine Beeinflussung der Immunantwort des menschlichen Organismus auf relativ wenige Medikamentengruppen, wie z.B. Analgetika, Antiphlogistika und Kontrazeptiva. Ein Grund hierfür ist sicherlich die Tatsache, daß das menschliche Immunsystem im Gegensatz zu soliden Organen, wie z.B. Herz, Leber, Niere oder Pankreas ein vergleichsweise "flüchtiges" Organ darstellt, das ubiquitär auf den gesamten Organismus verteilt ist. Geklärt ist heute, daß folgende Organe bzw. Organkompartimente primär dem menschlichen Immunsystem zuzuordnen sind: Thymus, Knochenmark, Lymphknoten (einschließlich Tonsillen, Peyersche Plaques, Appendix etc.) und mit Einschränkung die Milz und das Reticulo-Endotheliale-System (RES) der Leber. Die mikrokopisch-anatomisch kleinste Einheit des Immunsystems ist der mononukleäre Leukozyt, d.h. der Lymphozyt und der Monozyt, deren Strombahn bzw. Verbindungswege zwischen den genannten immunologischen Kompartimenten die Blut- und Lymphgefäße sind.

Aufgrund der Häufigkeitsverteilung in den genannten Organkompartimenten des Immunsystems, von unterschiedlichen Funktionen und von unterschiedlichen Zelloberflächenantigenen, lassen sich die Lymphozyten in sog. T-Lymphozyten und B-Lymphozyten subklassifizieren. T-Lymphozyten sind zum einen befähigt, nach Antigenkontakt sich zu spezifisch immunkompetenten Zellen zu differenzieren, die z.B. in der zellulär vermittelten Immunreaktion auf Tuberkulin aktiv werden, und zum anderen B-Lymphozyten zur spezifischen Antikörperproduktion anzuregen (T-Lymphozyten-abhängige Induktion von Plasmazellen). Die immunologische Funktion von Monozyten ist in diesem Zusammenhang nur insoweit gesichert, als daß diese Zellart offensichtlich notwendig ist, T-Lymphozyten ein entsprechendes Antigen in immunogener Form zu präsentieren.

In-vivo besteht die Möglichkeit, mit Hilfe des sog. Hauttestes die Funktionsbereitschaft des Immunapparates zu prüfen; hierbei werden verschiedene bakterielle oder Pilz-Antigenpräparationen, z.B. Tuberkulin oder Trychophyton-Antigen intra- oder subcutan injiziert. Im Falle einer positiven Reaktion kommt es nach 2-3 Tagen an der Injektionsstelle zu einer Ansammlung von spezifisch immunkompetenten T-Lymphozyten, die makroskopisch als Induration imponiert. Voraussetzung ist bei diesen Intracutantesten, daß der entsprechende Proband vorher eine spezifische Immunisierung durchgemacht hat.

Zur in-vitro Prüfung der Immunkompetenz eines Individuums sind heute eine Reihe von Verfahren entwickelt worden, von denen die Stimulation von isolierten Lymphozyten zumeist aus dem peripheren Blut eine hervorragende Stellung einnimmt. Diese Stimulationsprüfung beruht auf der vor etwa 20 Jahren von Nowell (36) gemachten Beobachtung, daß eine Reihe von pflanzlichen Lektinen über spezifische Oberflächenrezeptoren an Lymphozyten gebunden werden und diese zur Zellteilung veranlassen können. Aus diesem Grund werden diese Substanzen als Mitogene bezeichnet. Nachfolgende Untersuchungen haben gzeigt, daß unterschiedliche Lektine unterschiedlich stimulierend auf T- bzw. B-Lymphozyten

wirken und somit getrennt Aufschluß über die Funktionsfähigkeit dieser Lymphozytensubpopulationen geben.

Zur Frage des Einflußes von Medikamenten, z.T. im Sinne von Nebenreaktionen, auf die Reagibilität von Blutlymphozyten gegenüber Mitogenen liegen Arbeiten für die Analgetika- und Antiphlogistikagruppe (13, 21, 23, 38), sowie für Kontrazeptiva (5, 14) und Phenylhydantoin (31, 52) vor. Alle diese Medikamente hemmen in unterschiedlichem Ausmaß die in-vitro Stimulierbarkeit von Lymphozyten. Hier ist jedoch zu beachten, daß zum einen bei einem Großteil der genannten Untersuchungen die zu testenden Pharmaka erst in-vitro den Zellkulturen zugegeben wurden und zum anderen, daß einige Untersuchungen nur im Tierexperiment durchgeführt wurden. Zudem waren methodisch diese Studien nur bedingt vergleichbar.

Mit dem Einfluß von Neuroleptika auf den menschlichen Immunapparat beschäftigen sich vor allem drei, erst in letzter Zeit publizierte Arbeiten von Özek et al. (37), Baker et al. (4) und Trancheva (57). Dabei weisen sowohl Trancheva als auch Baker et al. auf eine Hemmung der T-Lymphozytenstimulation bei in-vitro Zugabe von antipsychotischen Substanzen hin, wohingegen Özek et al. eine gesteigerte Antikörpersythese gegen bestimmte Salmonellenantigene unter Neuroleptikabehandlung als verbesserte Reaktionsbereitschaft des Organismus unter dieser Medikation interpretiert.

Die Intention der vorliegenden Untersuchung lag darin, eine Beeinflussung der zellulären Immunität nach längerfristiger Neuroleptikaeinnahme (vornehmlich Haloperidol) mit Hilfe eines erprobten, standardisierten in-vitro Testes zu beobachten. Dies geschah in einer Longitudinalstudie durch Vergleich der Lymphozytenstimulation mit fünf verschiedenen Mitogenen am Tag 0 (unbehandelt), am Tag 3 (nach drei Tagen Neuroleptikamedikation) und am Tag 20 (nach zwanzig Tagen Neuroleptikamedikation).
Untersucht wurden 21 Patienten, denen ausschließlich Haloperidol verordnet wurde (davon fehlt bei 3 Patienten der Wert von Tag 20), 4 Patienten, bei denen Haloperidol mit Neurocil kombiniert wurde und 4 Patienten, bei denen Haloperidol und Taxilan verabreicht wurde.

Zur besseren Interpretation der Stimulationswerte von medikamentös behandelten Patienten wurde zusätzlich ein Normalkollektiv von 11 Personen aufgestellt, deren Stimulationswerte von Tag 0, 3 und 20 (analog den Medikamentengruppen) verglichen wurden.

2. Krankengut

Folgende Auswahlkriterien wurden bei dem untersuchten Krankengut angewandt:

1. In die Studie gingen nur Patienten ein, die bei Klinikaufnahme noch unbehandelt waren und bei denen eine Neuroleptikaverordnung über mindestens 20 Tage vorgesehen war. Es handelte sich deshalb fast ausschließlich um Psychosen aus dem schizophrenen Formenkreis.
2. Als unbehandelt galten Patienten, die in den letzten 4 Wochen vor Klinikaufnahme keine Medikamente bekommen hatten.
3. Begleitmedikationen während der Studie (von Tag 0 bis Tag 20 des Klinikaufenthaltes) wurden auf ein Minimum eingeschränkt. In Praxi ließen sich jedoch gelegentliche Verabreichungen von Medikamenten, wie Antibiotika, Sedativa etc. nicht vermeiden. Diese Patienten wurden nachträglich aufgrund der Nebenmedikation aus der Studie entfernt, um etwaige Veränderungen im Stimulationsverhalten am Tag 3 und Tag 20 eindeutiger der Neuroleptikamedikation zuordnen zu können. Bei akuten psychotischen Schüben mußten einige (N=3) in die Studie zunächst aufgenommene Patienten mit einmaligen Injektionen von anderen Neuroleptika, wie Clozapin oder Benperidol behandelt werden.

So ergaben sich drei Patientengruppen:

1. Ausschließlich Haloperidolmedikation (21 Patienten)
2. Haloperidol mit Taxilan kombiniert (4 Patienten)
3. Haloperidol mit Neurocil Kombiniert (4 Patienten)

Das Alter der in die Studie aufgenommenen Patienten beiderlei Geschlechts bewegte sich zwischen dem 16. und 67. Lebensjahr, wobei die Mehrzahl zwischen 20 und 40 Jahre alt war (über das Alter der Patienten in Beziehung zur Höhe der Stimulationsraten siehe S. 40).

Durch internistische Untersuchungen der Patienten bei Klinikaufnahme wurden andere chronische Erkrankungen, wie z.B. Diabetes mellitus, die nach dem heutigen Wissensstand die Lymphozytenreaktivität beeinflussen, ausgeschlossen. Nach Untersuchungen von Delespesse et al. (15) ist bei Diabetikern eine verminderte Lymphozytenproliferation unter PHA-Stimulation zu beobachten.

3. Kollektivierung und Aufarbeitung der Blutproben

3.1. Abnahmetechnik der Blutproben

Jeweils 20 ml Blut wurden nach Punktion der Kubitalvene in sterile Einmalplastikspritzen mit 0,2 ml stabilisatorfreiem Heparin (5000 IU/ml) aufgezogen. Es wurde ausschließlich das von der Firma Novo Industrie GmbH hergestellte konservierungsmittelfreie Heparin Novo verwendet, da die Stabilisatoren, wie Trikresol oder Phenol, die Lymphozytenreagibilität hemmen. Bis zur Verarbeitung wurde das Venenblut in der Spritze bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

3.2. Separation von Lymphozyten aus Vollblut

Die mononukleären Zellen wurden nach dem Verfahren von Boyum (9) aus dem Blut mittels einer Gradienten-Zentrifugation isoliert. Hierzu wurde das Lymphocyte Separation Medium (Flow Laboratories Kat.Nr. 16-920-49) verwendet (spezifische Dichte 1,077 bei 20°C). Es handelt sich bei diesem Gradienten um die Kombination eines hochmolekularen Polysaccharids "Ficoll" (Deutsche Pharmacia GmbH Frankfurt) mit der Jodamidlösung "Isopaque" (3-Acetamido-2,4,6-trijod-5-N-methyl-acetamidoacetat) (39).

Das heparinisierte Blut (20 ml) wurde in langsamem Fluß im Verhältnis 1:1 über den "Ficoll-Isopaque"-Gradienten geschichtet. Nach Zentrifugation für 18 Minuten bei 1300 g ohne Abbremsung des Rotors bei Zentrifugationsende ergab sich ein schmaler, relativ scharf begrenzter weißlicher Lymphozytenring. Die Kontamination mit Granulozyten kann vernachlässigt werden, da sie sich zwischen 5% und 10% bewegte, und Schellekens und Eijsvoogel (49) gezeigt haben, daß wesentlich größere Verunreinigungen mit Granulozyten die Stimulationsraten von Lymphozyten nicht signifkant verändern.

Mit einer sterilen Pasteurpipette wurde der Lymphozytenring abgesaugt und in ein steriles Zentrifugenglas, das mit 10 ml RPMI-1640 Medium (Gibco Kat.Nr. 187 G) beschickt war, gegeben. Die Zellsuspension wurde bei 280 g für 10 Minuten zentrifugiert, um Reste des Gradienten auszuwaschen. Der Oberstand wurde verworfen und das Sediment nach Aufschütteln in ca. 8 ml RPMI-1640 Medium resuspendiert. Es folgte eine weitere Zentrifugation bei 190 g für 8 Minuten. Der Oberstand wurde wiederum verworfen, die im Sediment sich befindenden Lymphozyten mit einer sterilen Pasteurpipette resuspendiert und ein Tropfen dieser Zellsuspension auf einen Objektträger gegeben.
Zellsuspension und 3%ige Essigsäure wurden nun im Verhältnis 1:20 in eine sog. Leukopipette aufgezogen, für 3 Minuten mit einem elektrischen Schüttler durchmischt und in eine Neubauer-Zählkammer gegeben. Nach Zählung der Lymphozyten unter einem Phasenkontrastmikroskop konnte durch Zugabe bzw. Abnahme von Kulturmedium die Zellzahl auf exakt 10^7 Lymphozyten/ml eingestellt werden.

Beispiel:

1. In der Neubauer-Kammer ermittelte Lymphozytenkonzentration: $8{,}5 \times 10^6$/ml
2. Volumen der Zellsuspension: 4,2ml
3. Gesamtlymphozytenzahl: $8{,}5 \times 10^6$/ml x 4,2 ml = $3{,}6 \times 10^7$
4. Gewünschte Zellkonzentration/ml: 10^7/ml

Um diese Zellkonzentration zu erhalten, muß die Zellsuspension auf 3,5 ml eingeengt werden, d.h. es müssen nach einer weiteren Zentrifugation bei 190 g für 10 Minuten 0,7 ml des zellfreien Überstandes entfernt werden. Lag die aktuelle Zellkonzentration über 10^7/ml, so wurde mit Kulturmedium die Zellsuspension entsprechend verdünnt.

3.3. Kryokonservierung von Lymphozyten

Eine Reihe von Mitteilungen (7, 55, 56) zeigen, daß hinsichtlich der Stimulationsantwort von frischen gegenüber biologisch kryokonservierten Lymphozyten kein Unterschied besteht. Aus organisatorischen Gründen wurden deshalb alle Lymphozytenproben zunächst biologisch kryokonserviert.
Die auf die Zellkonzentration von 10^7/ml eingestellte Lymphozytensuspension wurde dazu auf einer Kühlplatte auf +4°C abgekühlt.
Zur Kryokonservierung der Lymphozyten wurde ein sog. "Einfriermedium" nach folgender Rezeptur in einem sterilen 25 ml Zentrifugenglas gemischt:

1. 60% RPMI-1640 Medium + $NaHCO_3$ (Gibco Kat.Nr. 187 G) (5 ml Gentamycin (10 mg/ml) + 5 ml L-Glutamin (200 mM/ml) ad 500 ml RPMI-1640 Medium).
2. 20% AB-Serum steril, hitzeinaktiviert.
3. 20% DMSO (Dimethylsulfoxid, Serva Feinbiochemica Kat.Nr. 20385).
   Die Verwendung von DMSO als kryoprotektive Substanz wurde erstmals 1959 von Lovelock et al. (33) beschrieben. Für die Kryokonservierung und nachfolgende Aufbewahrung von Lymphozyten ist DMSO das am weitesten verbreitete Kryoprotectans.

Unter leichtem Schütteln wurde zur auf + 4°C vorgekühlten Zellsuspension das gleiche Volumen "Einfriermedium" (ebenfalls auf + 4°C vorgekühlt) tropfenweise zugegeben, was zu einer DMSO-Endkonzentration von 10% führte.

Die so hergestellte Zellsuspension mit 10% DMSO und einer Zellkonzentration von 5 x 10^6/ml wurde in sterile Plastikampullen der Firma Nunc (Kat.Nr. N 1077-1A) in einem Volumen von 1 ml/Ampulle abgefüllt und im Kühlschrank bei + 4°C bis zur eigentlichen biologischen Kryokonservierung aufbewahrt.
Nachdem alle Ampullen mit einer Zellsuspension abgefüllt waren, wurde diese in die Gefrierkammer eines automatischen Einfriergerätes (Union Carbide, Controlled Rate Freezer Modell CRF2) gegeben und langsam von + 4°C auf - 80°C heruntergekühlt.
Das Prinzip des CRF2 besteht darin, daß die Zerstäubung von flüssigem Stickstoff in der Gefrierkammer so gesteuert wird, daß die Ampullen mit einer gleichmäßigen Abkühlrate von 1°C/min, die von Knight et al. (32) als optimal bezeichnet wird, eingefroren werden. Dazu befinden sich in der Gefrierkammer zwei Elektroden, eine sog. Raumelektrode, die die Kammertemperatur mißt und eine sog. Referenzelektrode, die die Temperatur in einer Testampulle (gefüllt mit Kulturmedium und 10% DMSO) mißt.
Nachdem die Temperatur in der Testampulle nur über die Kammertemperatur zu regulieren ist, wurde immer dann durch Öffnen eines Ventils flüssiger Stickstoff in die Einfrierkammer zerstäubt, wenn die Temperaturen der Referenzampulle und der Kammer gleich waren. Dieses Gerät kompensierte auch automatisch die am Kristallisationspunkt der Zellsuspension (ca. - 10°C) freiwerdende Wärme durch zusätzliche Stickstoffzugabe. Die durch schrittweise Abkühlung der Kammertemperatur erreichte kontrollierte Abkühlung der Referenzampulle wurde mit Hilfe eines Kompensationsschreibers (Chessel Ltd. Modell 301) mit einem Papiervorschub von 2 cm/min aufgezeichnet.
Nach Abschluß des Einfriervorganges bei -80°C wurden die Ampullen in einem Tank unter flüssigem Stickstoff (- 196°C) aufbewahrt. Jede Ampulle war vor der Kryokonservierung mit einer entsprechenden Registriernummer gekennzeichnet. Nachdem insgesamt 130 Blutproben nach oben beschriebenem Verfahren eingefroren waren, erfolgte die Weiterverarbeitung.

4. Lymphozytenstimulation in-vitro

4.1. Darstellung der eingesetzten Mitogene

Zur Stimulation der Lymphozyten wurden insgesamt 5 verschiedene Mitogene in jeweils 2 verschiedenen Konzentrationen verwendet. Im einzelnen handelte es sich um:

PHA = Phytohaemagglutinin
(Wellcome Research Laboratories, Kat.Nr. HA 16)
Verwendete Konzentrationen:
- 1 µg/ml Kulturvolumen
- 2 µg/ml Kulturvolumen

PHA ist ein alkoholischer Extrakt aus der roten Schminkbohne, Phaseolus vulgaris, der nach Bindung an entsprechende Zellmembranrezeptoren Lymphozyten zur Blastentransformation und nachfolgender Mitose anregt.
Erstmals wurde dies 1960 von Nowell (36) beschrieben und sowohl Wybran et al. (61) als auch Shortmann et al. (51) zeigten 1973, daß sich die PHA-induzierte Stimulation fast ausschließlich auf die T-Zellsubpopulation der Lymphozyten beschränkt.
In der Literatur findet sich eine empfohlene PHA-Konzentration von 1-5 µg/ml bei Stimulation humaner Lymphozyten. So spricht Yamamura (62) von einer optimalen Konzentration von 1 µg/ml und einem Abfall der Stimulationswerte bei Konzentration über 10 µg/ml, wahrscheinlich durch cytotoxische Wirkung des PHA.

ConA = Concanavalin A
(Sigma Chemical Kat.Nr. 6121069)
Verwendete Konzentrationen:
- 10 µg/ml Kulturvolumen
- 15 µg/ml Kulturvolumen

ConA gehört zu den bestuntersuchten pflanzlichen Lektinen. Es handelt sich dabei um einen Extrakt von Canavalia ensiformis aus der Familie der Leguminosae.

Die Substanz ConA ist schon relativ lange bekannt (bereits 1919 wurde es von Sumner (53) im kristallinen Zustand dargestellt), aber erst 1968 wurde seine Mitogeneigenschaft auf Lymphozyten nachgewiesen.
ConA ist ein reines Protein, das bei pH 7,0-7,5 hauptsächlich als Tetramer mit Untereinheiten von 25500 MG vorliegt.
In der Literatur (24, 30) wird ConA als überwiegender T-Zellstimulator beschrieben, wobei Andersson (2) eine nachweisbare, geringe B-Zellaktivierung auf noch nicht genau definierte Substanzen zurückführt, die von T-Lymphozyten freigesetzt werden und eine mitogene- bzw. wachstumsfördernde Wirkung auf B-Zellen besitzen sollen.
Polet et al. (41) zeigen brauchbare Stimulationsraten bei ConA-Konzentrationen bis 20 µg/ml Kulturvolumen und auch Mackler (34) weist auf eine deutliche Hemmung der Tymidineinbaurate bei Konzentrationen über 50 µg/ml hin.

PWM = Pokeweed Mitogen
(IBF Frankreich)
Verwendete Konzentrationen:
- 2,5 µg/ml Kulturvolumen
- 5,0 µg/ml Kulturvolumen

PWM ist ein Extrakt vor allem aus der Wurzel von Phytolacca americana, dessen lymphozytenstimulierende Fähigkeit 1964 erstmals von Farnes (18) entdeckt wurde.
Im Gegensatz zu PHA und ConA, die als fast ausschließende T-Zellstimulatoren betrachtet werden, scheint PWM sowohl B- als auch T-Lymphozyten zu stimulieren. Bei Ratten und Hühnern wurde dies bereits nachgewiesen (22, 59).

ATG = Antithymozytenglobulin
Verwendete Konzentrationen:
- 5 µg/ml Kulturvolumen
- 10 µg/ml Kulturvolumen

Bei dem hier verwendeten Antiserum handelt es sich um ein im Institut für Hämatologie, Abteilung Immunologie (PD Dr. Rodt (45)) durch Immunisierung von Kaninchen mit humanen Thymuszellen hergestelltes Antithymozytenglobulin.
Die erste Mitteilung, daß ein Antilymphozytenserum mitogen auf periphere Blutlymphozyten wirkt, stammt von Greaves et al. (24). Im humanen System konnte bisher nicht endgültig abgeklärt werden, ob es sich bei dieser in-vitro Stimulation um eine reine T- oder B-Lymphozytenantwort handelt.

STE = Staphylokokkenenterotoxin
(Serva Feinbiochemica Kat.Nr. 35340)
Verwendete Konzentrationen:
- 0,05 µg/ml Kulturvolumen
- 0,1 µg/ml Kulturvolumen

Bei der Substanz STE handelt es sich um ein Enterotoxin vom Bakterienstamm Staphylococcus aureus, von dem beim Menschen noch nicht geklärt ist, welche Lymphozytensubpopulationen stimuliert werden und ob es sich dabei um einen antigenspezifischen oder -unspezifischen Stimulationsmechanismus handelt (44).
In Vorversuchen an über 50 Normalpersonen wurde der optimale Mitogenkonzentrationsbereich festgelegt.

Zur Mitogenstimulation der Lymphozyten wurden MICROTITER-Platten System Cooke (Firma Nunc Kat.Nr. 1482) verwendet.
Zum Gebrauch für Zellkulturen waren diese Platten in einem speziellen Verfahren oberflächenbehandelt worden. Auf diesen Kunststoffplatten mit 96 Vertiefungen, die pro Vertiefung ein Fassungsvermögen von 0,2 ml hatten, wurden die 5 Mitogene folgendermaßen verteilt:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A					PHA		0,2	µg	PHA		0,4	µg
B	ConA		2,0	µg	ConA		3,0	µg	PWM		0,5	µg
C	PWM		1,0	µg	ATG		1 : 16		ATG		1 : 32	
D	STE		0,01	µg	STE		0,02	µg				
E					PHA		0,2	µg	PHA		0,4	µg
F	ConA		2,0	µg	ConA		3,0	µg	PWM		0,5	µg
G	PWM		1,0	µg	ATG		1 : 16		ATG		1 : 32	
H	STE		0,01	µg	STE		0,02	µg				

Abb. 1: Schema der Anordnung der einzelnen Mitogene in einer MICROTITER-Platte System Cooke. In Position A1 bis A4 und E1 bis E4 war kein Mitogen vorhanden. Diese Positionen wurden als Leerwert bezeichnet, da hier die Spontaneinbaurate der Lymphozyten bestimmt wurde.

Aus diesem Schema ist ersichtlich, daß auf einer Mitogenplatte zwei Proben untersucht werden konnten und daß sowohl vom Leerwert als auch von jeder Mitogenkonzentration jeweils Vierfachtestungen (Quadruplicates) vorgenommen wurden.

4.2. Lyophilisierung der Mitogene

Zur Einbringung der Mitogene in die MICROTITER-Platten wurde ein modifizierter HAMILTON-Dispensor verwendet (Grosse-Wilde (25)). Dabei handelte es sich um eine Dosiervor-

richtung, bei der durch Betätigung eines Druckknopfes ein Volumen von 15 µl aus einer eingespannten sterilen Einmaltuberkulinspritze ausgedrückt wurde.
Die Mitogene wurden vorher mit PBS (Phosphatgepufferte Kochsalzlösung, Gibco Kat.Nr. 420) so verdünnt, daß in diesen 15 ul genau die in Abbildung 1 angegebenen Mitogenkonzentrationen enthalten waren.
Die Mitogenverdünnungen wurden durch o,22 u Einmalfilter (Millipore Kat.Nr. SL GS 025 05) filtriert und steril in Stechampullen abgefüllt. Die abgefüllten Lösungen waren bei - 20°C ca. 2 Monate haltbar.
Das Beschicken der Mitogenplatten erfolgte mit dem oben beschriebenen HAMILTON-Dispensor unter sterilen Bedingungen in einem Laminar Air Flow der Firma Roth.
Danach wurden zur Vermeidung von Kontamination die mitogenbeschickten MICROTITER-Platten mit nicht toxischer Adhäsivfolie (Dynatech M 30 A) abgedeckt, mit einem 96-fach Perforator (Flow Laboratories) gelocht und bis zur Lyophilisierung bei - 20°C aufbewahrt.
Die Lyophilisierung geschah in der Staatlichen Landesimpfanstalt München in der Gefriertrocknungsanlage der Firma Leybold (Modell GT 6). Nach 60 Minuten Vorfrieren wurden die MICROTITER-Platten innerhalb von 10 Stunden von - 40°C auf + 20°C gefriergetrocknet. Die Belüftung der Lyophilisationskammer geschah mit Argon, um eine Anfeuchtung der Lyophilisate durch Luftfeuchtigkeit zu vermeiden. Danach wurden die MICROTITER-Platten unverzüglich in wasserundurchlässige Plastikbeutel eingeschweißt. Diese Beutel waren vorher mit 3 Mrad gammasterilisiert worden. Die so gefertigten Mitogenplatten wurden bis zur Verwendung bei +4°C gelagert.

4.3. Auftauvorgang der kryokonservierten Lymphozyten

Die unter Stickstoff gelagerten Gefrierampullen wurden direkt in 38°C warmes Wasser gegeben und dort unter ständiger Bewegung, bis daß das letzte sichtbare Eis geschmolzen war, aufgetaut.

Die aufgetauten Ampullen wurden sofort auf gestoßenes Eis gegeben. Mit einer sterilen Pasteurpipette wurde die Lymphozytensuspension aus der Plastikampulle in ein Zentrifugenglas pipettiert.
Da DMSO bei Konzentrationen größer als 0,1% die proliferative Antwort von Lymphozyten hemmt (60), wurde das DMSO ausgewaschen. Auf einer Kühlplatte (Firma PSI Modell Nr. 75497) wurde deshalb der Zellsuspension unter Schütteln tropfenweise im Verhältnis 1:1 inaktiviertes AB-Serum und anschließend 20 ml RPMI-Kulturmedium zugegeben und danach bei 280 g für 10 Minuten zentrifugiert. Der zellfreie Überstand wurde abgesaugt und die im Sediment verbleibenden Lymphozyten resuspendiert und in einer Neubauer-Zählkammer unter einem Phasenkontrastmikroskop gezählt. Die aufgetauten Lymphozyten wurden nun auf eine Konzentration von $6{,}6 \times 10^6$/ml eingestellt.
Bei jedem Auftauvorgang wurde eine Recovery-Quote (= Zahl der nach dem Auftauen erhaltenen Lymphozyten im Vergleich zur ursprünglich eingefrorenen Zellzahl) ermittelt.
Zusätzlich wurden die aufgetauten Zellsuspensionen mit einer Trypanblau-Vitalfärbung auf tote Zellen untersucht (Trypanblau diffundiert durch defekte Zellmembranen).

4.4. Anlage der Lymphozytenkulturen in Mitogenplatten

Das Anlegen der Kulturen erfolgte in den bereits beschriebenen MICROTITER-Platten mit den einzelnen lyophilisierten Mitogenen. Hierzu wurden die Platten aus den zugeschweißten Plastikfolien herausgenommen, mit einer laufenden Versuchsnummer beschriftet und unter sterilen Bedingungen mit Kulturmedium, Serum und Zellen mit Hilfe des HAMILTON-Dispensors beschickt:

- 150 µl RPMI-1640 Medium (Zusammensetzung siehe Seite 10)
- 15 µl AB-Serum (ca. 10%)
  (Die Bedeutung der Anwesenheit von Serum in Lymphozytenkulturen wird vor allem von Hirschberg et al. (28) betont).
- 15 µl Zellsuspension
  (Bei einer Zellkonzentration von $6{,}6 \times 10^6$/ml ergibt dies

100 000 Zellen/Vertiefung; insgesamt ergibt dies ein Gesamtkulturvolumen von 0,180 ml).

4.5. Inkubation und Markierung der H3-Thymidin-Lymphozyten

Die mit Lymphozyten beschickten Mitogenplatten wurden in eine CO_2-durchlässige Plastiktüte gegeben und bei 37°C und 98%iger Luftfeuchtigkeit im Brutschrank (Heraeus Modell KB 600-G-CO_2) inkubiert. Da bikarbonatgepuffertes Medium verwendet wurde, erfolgte im Brutschrank eine 5%ige CO_2-Begasung, um einen physiologischen pH-Wertebereich von 7,4 bis 7,6 konstant zu halten. Die Inkubationsdauer betrug 72 Stunden. Sowohl Cooper et al. (11) als auch Schellekens und Eijsvoogel (49) haben für Mitogenstimulationen gezeigt, daß die H3-Thymidin-Einbaurate nach einer Inkubationsdauer von 24 bis 48 Stunden beginnt und ein Maximum zwischen 48 und 72 Stunden erreicht.
Nach ca. 60 Stunden Kulturdauer erfolgte die radioaktive Markierung mit H3-Thymidin (Firma Amersham-Buchler Kat.Nr. TRA 120) für 16 Stunden. Dabei wurde ebenfalls mit einem HAMILTON-Dispensor pro Vertiefung 1,5 uCi der H3-Thymidin-Lösung (spezifische Aktivität 5 Ci/mM) in einem Volumen von 15 ul zugegeben. Die verwendete H3-Thymidin-Konzentration wird von Bain (3) bestätigt.

4.6. Ernten der Kulturen

Zur Aufarbeitung der Zellkulturen für die Szintillationsmessung wurde das von Harrison et al. (26) beschriebene Verfahren in geringfügig modifizierter Form verwendet. Dazu wurden die Mitogenplatten 16 Stunden nach radioaktiver Markierung für 10 Minuten bei 600 g zentrifugiert. Da sich durch die Zentrifugation die Lymphozyten am Plattenboden absetzten, blieb das nicht in Zellen eingebaute H3-Thymidin im Kulturüberstand, der mit einer Absaugvorrichtung entfernt wurde.

Um die am Plattenboden adhärenten Zellen abzulösen, wurde in jede der abgesaugten Vertiefungen mit Hilfe eines HAMILTON-Dispensors 0,150 ml einer 0,25%igen, auf 37°C erwärmten Trypsinlösung zugegeben. Nach ca. 3 Minuten Einwirkungsdauer wurden die Zellen geerntet (Ansatz von 1,25 g Trypsin (Serva Feinbiochemica Kat.Nr. 37290) in 500 ml Hank'scher Lösung (Gibco Kat.Nr. 402)).
Dazu wurde ein halbautomatisches MICROTITER-Erntegerät (Semiautomatic Multiple Sample Precipitator, Otto HILLER, Madison, Wisconsin) verwendet.

Nach Fixierung der MICROTITER-Platte konnten mit einem Absaugrechen jeweils 12 Vertiefungen geerntet werden. Die durch ein von einer Pumpe erzeugtes Vakuum angesaugten Zellen wurden, pro Vertiefung getrennt, auf einen zwischengeschalteten Glasfaserfilterstreifen (Schleicher & Schüll Nr. 6, 13 x 194 mm) abgeschieden.
Durch anschließendes Ausspülen der Vertiefungen mit Aqua dest. konnten sowohl noch anhaftende Zellen abgelöst, als auch unspezifisch gebundenes H3-Thymidin aus den Filterstreifen entfernt werden.
Der Filterstreifen, auf dem sich die Einzelproben von 12 Vertiefungen in einem Abstand von ca. 1 cm befanden, wurde nun mit einer Pinzette entnommen, auf einer Heizplatte getrocknet und anschließend Zellprobe für Zellprobe in Plastikszintillations-Zählröhrchen (Firma Roth Szintillationsröhrchen 27-60) eingeschnitten.
In jedes Röhrchen wurde mittels einer BRAND-Dispensette 5 ml Szintillationsflüssigkeit (Szintillationsmischung Roth; 6g PPO + 10 mg POPOP auf 1 l Toluol) gefüllt und mit einem Schraubdeckel verschlossen.

4.7. Bestimmung der H3-Thymidin-Einbaurate und Computerauswertung

Die so beschickten Szintillationsröhrchen wurden nun in einem Beta-Szintillationszähler (Packard Modell Tricarb 2450) auf Tritium-Aktivität untersucht.

Die in Counts pro Minute (Cpm) ausgewiesenen Meßergebnisse pro Röhrchen wurden von einem "on-line" angeschlossenen Teletype-Schreiber ausgedruckt. Zur Datenverarbeitung wurde zusätzlich das Ergebnis auf Lochstreifen gestanzt, die in einem Interdata-Computer Modell 70 ausgewertet wurden.
Dabei konnte auf ein im Institut für Hämatologie entwickeltes Computerprogramm (47) zurückgegriffen werden, das für diese Versuchsanordnung nur geringfügig modifiziert werden mußte.
Da, wie in Abbildung 1 erläutert, sämtliche Mitogenstimulationen vierfach angelegt waren, wurden zunächst die jeweiligen arithmetischen Mittelwerte berechnet. Cpm-Einzelwerte, die in einem Vierfachansatz außerhalb des 2Sigma-Bereichs lagen, wurden nicht zur Mittelwertsberechnung herangezogen.
Da nur die mitogeninduzierte Lymphozytenreaktion von Interesse war, wurde bei jeder untersuchten Person von allen gemittelten Stimulationswerten der Mittelwert der Spontaneinbaurate (Nullwert) abgezogen.
Pro Person und Untersuchungstag lagen von jeder Blutprobe 10 Stimulationswerte (5 verschiedene Mitogene à zwei Konzentrationen) vor.
In der abschließenden Auswertung wurde versucht, die Stimulationsraten der Patienten vor Behandlung zu den Stimulationsraten nach Neuroleptikabehandlung in Beziehung zu setzen.

5. Auswertung und Diskussion der Ergebnisse

5.1. Arbeitstechnische Daten

Die Aufarbeitung sämtlicher vorab kryokonservierter Lymphozyten geschah in insgesamt 15 Kulturansätzen. Dabei wurden durchschnittlich Lymphozyten aus 9 Blutproben verarbeitet.

Von den insgesamt 84 Blutproben neuroleptikabehandelter Patienten mußten 6 aufgrund technischer Schwierigkeiten (zu geringe Zellausbeute nach dem Auftauvorgang, ungenügende Stimulationsraten u.ä.) wiederholt einer Mitogenstimulation unterzogen werden, um die erhaltenen Werte zu korrigieren bzw. zu Oberprüfen.
Bei der Anlage eines Normalkollektivs wurden 33 Blutproben verarbeitet.
Die durchschnittliche Lymphozytenausbeute pro 20 ml Blut betrug $2{,}03 \times 10^7$ ($\pm$ $0{,}68 \times 10^7$) Zellen.
Zwar zeigten Blutproben einiger Patienten mit Lymphopenie auch geringere Stimulationswerte; dennoch kann man nicht von einer strengen Korrelation: geringe Lymphozytenzahl - geringe Stimulationswerte bzw. hohe Lymphozytenzahl - hohe Stimulationswerte sprechen. Die Berechnung des linearen Korrelationskoeffizienten ergab einen Wert von $r = 0{,}349$.

Die Recovery-Quote nach dem Auftauvorgang von 2 Ampullen (= $1{,}0 \times 10^7$ eingefrorene Lymphozyten) schwankte zwischen $6{,}2 \times 10^6$ und $9{,}6 \times 10^6$, d.h. im Durchschnitt betrug die Zellausbeute nach dem Auftauvorgang 82%. Dieser Wert entspricht den von Weiner (60) mitgeteilten Ergebnissen.

Nach jedem Auftauvorgang wurde eine Trypanblau-Vitalfärbung zur Quantifizierung der toten Zellen angeschlossen. Der Wert der toten Zellen betrug $3{,}8 \pm 1{,}7$%, so daß die in Kultur gebrachte Lymphozytenzahl nicht um diesen Betrag korrigiert wurde.

5.2. Besprechung der Kurvenverläufe

5.2.1. Normalkollektiv

Zur besseren Interpretation der Stimulationswerte neuroleptika-behandelter Patienten wurde ein Normalkollektiv von 11 gesunden Probanden, im Alter zwischen 20 und 39 Jahren, aufgestellt. Diesen Probanden, die während der Versuchsdauer keinerlei Medikamente zu sich nahmen, wurde (analog zur Blutabnahme bei den Patienten) am Tag 0, 3 und 20 jeweils 20 ml Blut abgenommen. Die Absicht war, anhand der Reaktionswerte der Normalpersonen medikamenteninduzierte Wirkungen eindeutiger von individuellen und verfahrensbedingten Variationen (siehe S. 39) abzugrenzen. Die Auswertung dieser Kurvenverläufe sei deshalb hier vorangestellt:

Auffallend sind beim Normalkollektiv zwei Personen, deren Werte am Tag 0 bei Stimulation mit fast allen Mitogenen extrem niedrig lagen, bei denen jedoch die Werte von Tag 3 und 20 wiederum im Normalbereich zu finden waren. Dies ist offensichtlich auf technische Fehler zurückzuführen, da beide Blutproben als einzige dieses Kollektivs einen Tag vor Aufarbeitung abgenommen wurden. Für die Berechnung der Standardabweichung, sowie zur Besprechung der Kurvenverläufe wurden die Reaktionswerte dieser beiden Personen deshalb nicht herangezogen.

Vergleicht man die verschiedenen Mitogene und deren Konzentrationen untereinander, so ergeben sich doch deutliche Unterschiede in ihrem Stimulationsverhalten:

PHA-Stimulation (siehe Abb. 6 und Abb. 7)

PHA_2 (2 µg/ml) weist gegenüber PHA_1 (1 µg/ml) im Mittel um 15000 Cpm höhere Werte auf. Die Kurvenverläufe in beiden Konzentrationen sind jedoch nahezu identisch.

Gegenüber Tag 0 kommt es am Tag 3 bei PHA_1 bei allen Personen,bei PHA_2 immerhin bei 7 Personen (die restlichen beiden Werte sind gegenüber Tag 0 praktisch unverändert) zu einer leichten Verminderung der Lymphozytenreaktion, die bei PHA_1 ca. 20000 Cpm, bei PHA_2 ca. 50000 Cpm beträgt.
Am Tag 20 kommt es dann teils zu einer Erholung im Sinne einer Annäherung an die Werte von Tag 0, zum Teil jedoch auch zu einem weiteren leichten Abfall.

ConA-Stimulation (siehe Abb. 8 und Abb. 9)

Auch bei diesem Mitogen besteht eine weitgehende Übereinstimmung in den Kurvenverläufen beider Konzentrationen. Die Variation der ConA-Reaktion überschreitet selten einen Bereich von 20000 Cpm. Zwar liegen die Werte bei $ConA_2$ generell um 30000 Cpm höher als bei $ConA_1$; der Bereich der Standardabweichung ist jedoch nahezu identisch.

PWM-Stimulation (siehe Abb. 10 und Abb. 11)

Dieses Mitogen scheint eine geringere stimulierende Wirkung auf Lymphozyten zu besitzen. In der graphischen Darstellung wurde deshalb der Maßstab verändert, um wegen der niedriger liegenden Werte übersichtlich zu bleiben.
Es ergeben sich dennoch große Ähnlichkeiten beim Vergleich der Kurvenverläufe von PWM_1 mit PHA_1, aber auch mit $ConA_1$, nur daß hier die Werte durchschnittlich um 70000 Cpm höher liegen.
Betrachtet man die höhere PWM-Konzentration, so läßt sich auch hier die Ähnlichkeit im Stimulationsverhalten gegenüber PHA und ConA noch erkennen, obwohl der Unterschied im Mittel noch größer ist (ca. 100000 Cpm), da PWM_2 nie Werte über 50000 Cpm erreicht.

ATG-Stimulation (siehe Abb. 12 und Abb. 13)

Dieses Mitogen, vor allem bei der höheren Konzentration ATG_2, weist die stärksten Schwankungen in den Stimulationsraten am Tag 3 und Tag 20 zu Tag 0 auf. Dabei kommt es bei demselben Probanden auch wesentlich häufiger als bei den anderen Mitogenen zu sehr unterschiedlichen Kurvenverläufen von ATG_1 zu ATG_2.

STE-Stimulation (siehe Abb. 14 und Abb. 15)

Diskrepanzen in den Kurvenverläufen beider Konzentrationen sind hier sehr deutlich.
Die höhere STE-Konzentration besitzt eine wesentlich erniedrigte mittlere Stimulationskapazität. Ähnliches zeigte sich, wenn auch in geringerem Ausmaß, beim PWM.

Für die Mitogene PHA, ConA und PWM (jeweils in beiden Konzentrationen) kommt es bei allen Normalpersonen mit wenigen Ausnahmen zu identischen Kurvenverläufen von Tag 0 über Tag 3 zu Tag 20. Diskrepanzen in den Kurvenverläufen der einzelnen Normalpersonen sind fast ausschließlich bei den Mitogenen STE und ATG zu finden. Die Ursachen für diese starken Schwankungen in der Stimulationskapazität von ATG und STE sind unklar und machen eine gemeinsame Besprechung und Interpretation der Stimulationswerte von ATG und STE mit den anderen Mitogenen schwierig.
Abbildung 2 soll dies anhand einer willkürlich herausgegriffenen Normalperson verdeutlichen.
Es zeigt sich bei den drei Mitogenen PHA, ConA und PWM (jeweils in beiden Konzentrationen) der gleiche Kurvenverlauf, d.h. eine Abnahme der Lymphozytenreaktion am Tag 3, gefolgt von einer Erholung bzw. einem Anstieg am Tag 20. Dieser Tendenz laufen die beiden ATG-Konzentrationen (gestrichelte Linien), sowie die höhere STE-Konzentration (untere strichpunktierte Linie) entgegen. Zusätzlich zeigt Abbildung 2, daß die Werte für PHA und ConA in einem brauchbaren, mittleren Stimulationsbereich liegen.

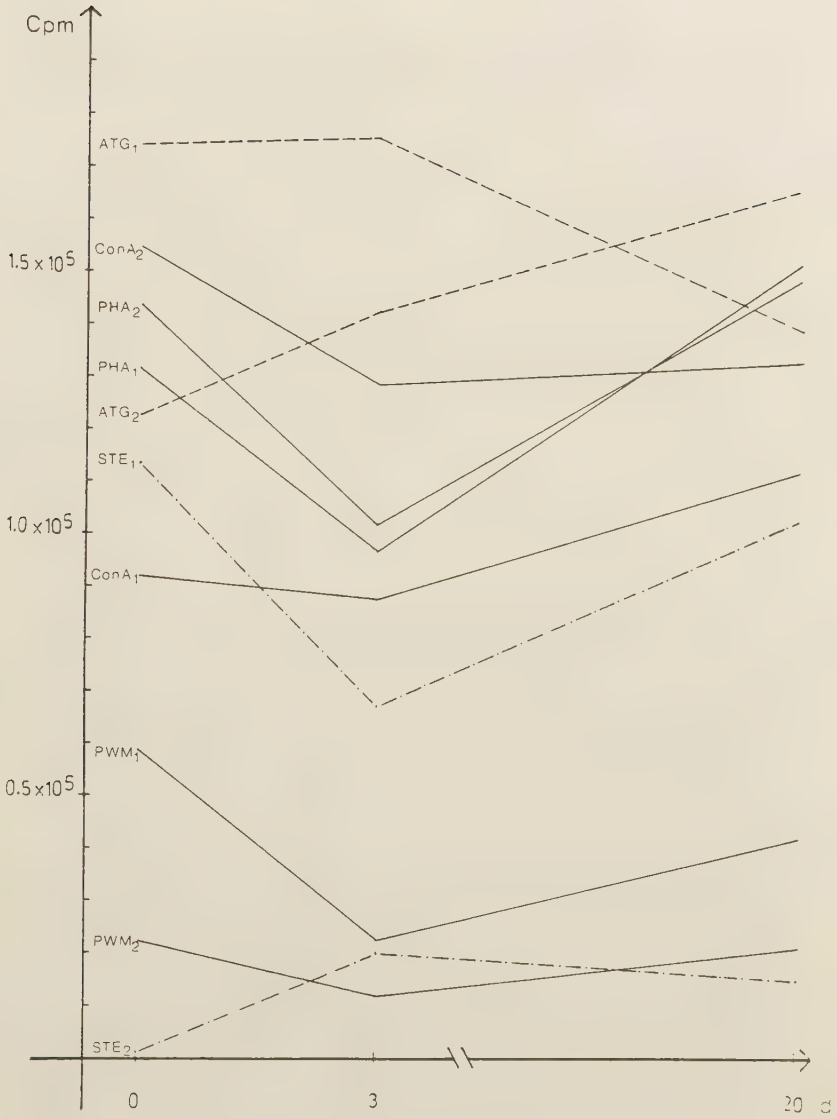

Abb. 2: Longitudinale in-vitro Antwort eines willkürlich aus dem Normalkollektiv herausgegriffenen Probanden.
Eingezeichnet sind sämtliche Mitogenstimulationen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Austestung des Normalkollektivs zu folgendem Ergebnis geführt hat:

Bis auf einige, wohl technisch bedingte Ausreißer, zeigen die für die Mitogene PHA, ConA und PWM erhaltenen Stimulationswerte eine akzeptable Streubreite und longitudinal relativ geringe Varianzen, was mit den Erfahrungen anderer Autoren (8, 34, 40, 41, 42, 62, 63) korreliert, während die Resultate bei Stimulation mit ATG und STE aufgrund zu großer Schwankungen nicht für vergleichende Untersuchungen, hier die Patientengruppe nach Neuroleptikatherapie, herangezogen werden können.

5.2.2. Haloperidol-Gruppe

5.2.2.1. Vorstellung des Neuroleptikums Haloperidol

Diese Gruppe umfaßt 21 Patienten, überwiegend aus dem schizophrenen Formenkreis. Bei 3 Patienten lag ein halluzinatorisches Alkoholdelir vor. Die Patienten waren unbehandelt, d.h. vier Wochen vor Stationsaufnahme ohne Medikation und während des Beobachtungszeitraumes von 20 Tagen ausschließlich unter Haloperidol-Medikation. Bei 3 Patienten konnte wegen vorzeitiger Entlassung bzw. Abbruch der Therapie kein Wert am Tag 20 erhoben werden.

Das angewandte Butyrophenon-Derivat Haloperidol Jansen (chemisch ein 4-Fluor-4(4-(4-chlorphenyl)4-hydroxy-1-piperidyl)-butyrophenon) zählt zu den gegenwärtig am häufigsten verordneten Neuroleptika in Europa.
Die wichtigste Indikation für Haloperidol sind psychotische Zustandsbilder, aber auch nichtschizophrene Verhaltensstörungen, wie psychomotorische Erregungszustände, z.B. aufgrund cerebralsklerotischer Veränderungen.
An Nebenwirkungen treten extrapyramidalmotorische Symptome (Dystonien, Dyskinesien, Akathisie, Parkinson-Reaktionen), sowie initiale Blutdrucksenkung auf (35). Leberschäden, Blutbildveränderungen

und Allergien wurden laut Hersteller (Firma Jansen GmbH) in therapeutischen Dosen nicht beobachtet.

5.2.2.2. Diskussion der Mitogenstimulationen

Auffallend sind die Kurvenverläufe von 3 Patienten, die gegenüber den restlichen 18 Patienten extrem hohe Stimulationswerte aufweisen. Dies zeigt sich mit Ausnahme von ATG bei allen Mitogenen. Diese Werte konnten in wiederholten Testungen bestätigt werden, so daß verfahrensbedingte Fehler auszuschließen sind. Eine Erklärung konnte bei keinem der 3 Patienten gefunden werden, da eine Kontrolle der Blutbilder sowie der Krankengeschichten keine Auffälligkeiten ergab und sich die Haloperidol-Medikation bei allen in einem mittleren Dosierungsbereich bewegte.

PHA-Stimulation (siehe Abb. 16 und Abb. 17)

Abgesehen von diesen 3 Patienten streuen die übrigen Werte bis max. 150000 Cpm, sowohl bei PHA_1 als auch bei PHA_2.
In dem untersuchten Patientenkollektiv ist keine einheitliche Tendenz im Sinne einer Stimulation bzw. Depression nach Haloperidolgabe am Tag 3 gegenüber Tag 0 zu erkennen. So kommt es am Tag 3 zwar in 11 Fällen bei PHA_1 zu einer Verminderung der Lymphozytenreaktion, die sich zwischen 5000 und 140000 Cpm bewegt, im Mittel ca. 50000 Cpm (bei PHA_2 in 12 Fällen mit 5000 bis 120000 Cpm, im Mittel ebenfalls 50000 Cpm); dem steht jedoch ein Anstieg in 10 Fällen bei PHA_1 (9 Fälle bei PHA_2) gegenüber, der in beiden Konzentrationen ca. 40000 Cpm beträgt.
Am Tag 20 des Beobachtungszeitraumes nähern sich die Stimulationswerte wieder dem Ausgangswert vor Behandlung. Dies wird bei PHA_1 besonders deutlich, wo in 13 Fällen am Tag 20 H3-Thymidineinbauraten erreicht werden, die mit denen von Tag 0 nahezu identisch sind.
Obwohl diese Tendenz auch bei der Stimulation mit PHA_2 zu erkennen ist, ist sie dort nicht so deutlich ausgeprägt, d.h. die Differen-

zen von Tag 0 zu Tag 20 sind höher. Aber auch hier zeigt sich, daß die starken Schwankungen vom dritten Behandlungstag am zwanzigsten Tag wieder weitgehend ausgeglichen sind.
Ein Vergleich mit der PHA-Stimulation beim Normalkollektiv (Abb.6 und Abb. 7) zeigt, daß diese relativ starken Schwankungen am Tag 3 bei den untersuchten Normalpersonen nicht zu beobachten sind.

ConA-Stimulation (siehe Abb. 18 und Abb. 19)

Wie schon bei der PHA-Stimulation liegen auch bei ConA die bereits erwähnten 3 Patienten mit ihren Werten weit über dem Reaktionsmuster der übrigen Patienten.
Im Gegensatz zu PHA liegen bei der ConA-Stimulation bis auf geringe Ausnahmen in beiden Mitogenkonzentrationen praktisch identische Kurvenverläufe vor. So kommt es sowohl bei $ConA_1$ als auch bei $ConA_2$ in 12 Fällen zu einem Anstieg der Reaktion am Tag 3 gegenüber Tag 0 von jeweils durchschnittlich 30000 Cpm (Standardabweichung s = 24300) und in 9 Fällen zu einer Verminderung von durchschnittlich 50000 Cpm (s = 41100).
Es läßt sich auch bei Stimulation mit ConA wie schon bei PHA kein einheitlicher Trend der Veränderung der Reaktionslage 3 Tage nach Haloperidolmedikation gegenüber dem Ausgangswert feststellen.
Am Tag 20 pendeln sich die Werte wieder auf den Bereich von Tag 0 ein. So kommt es bei 7 von 17 Patienten (= 47%) bei $ConA_1$ bzw. 10 von 17 Patienten (= 58%) bei $ConA_2$ zu einer annähernden Rückkehr zum Ausgangswert (max. 20000 Cpm Differenz). Auch in den restlichen Fällen ist diese Tendenz erkennbar, jedoch sind die Differenzen zum Ausgangswert größer.

PWM-Stimulation (siehe Abb. 20 und Abb. 21)

Wie bei den Reaktionen des Normalkollektivs liegen auch bei den mit Haloperidol behandelten Patienten die

H3-Thymidineinbauraten nach PWM-Stimulation im Vergleich zur PHA bzw. ConA-Stimulation wesentlich niedriger. So überschritten die Stimulationswerte bei PWM_1 nie die 80000 Cpm-Grenze, bei PWM_2 liegt der Großteil der Werte unter 40000 Cpm. Trotz dieser niedrigen Stimulation sind die Kurvenverläufe in beiden Konzentrationen verglichen mit PHA und ConA bei den einzelnen Patienten nahezu identisch.

ATG-Stimulation (siehe Abb. 22 und Abb. 23)

Im Vergleich zu den relativ einheitlichen Kurvenverläufen der Lymphozytenreaktion gegenüber den 3 besprochenen Mitogenen PHA, ConA und PWM ist auffallend, daß eine Vielzahl von "Ausreißern" bei der ATG-Stimulation zu finden sind.
Die vom Normalkollektiv bereits bekannten individuellen Schwankungen für die Tage 0, 3 und 20 nehmen jetzt extreme Ausmaße (bis zu 150000 Cpm) an.
Die starke Varianz dieser Mitogenstimulationsreaktion kommt also auch bei den mit Haloperidol behandelten Patienten deutlich heraus.

STE-Stimulation (siehe Abb. 24 und Abb. 25)

STE ist, vor allem in niedriger Konzentration, in seinem Stimulationsverhalten mit Einschränkung dem von PHA, ConA und PWM zu vergleichen.
Bei der höheren Konzentration STE_2 bewegen sich die Stimulationsraten in den meisten Fällen am Nullpunkt und machen deshalb eine Interpretation im Sinne einer neuroleptikabewirkten Beeinflussung unmöglich.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß sich kein einheitlicher Trend für eine Veränderung der Lymphozytenstimulierbarkeit bei haloperidolbehandelten Patienten, sowohl am Tag 3 als auch am Tag 20, ergeben hat.

Diese Aussage wurde mit dem Friedmann-Test (48), einer Rangvarianzanalyse für verbundene Stichproben, erhärtet. Dabei hat sich die Alternativhypothese als nicht signifikant erwiesen ($p = 0,05$), d.h. es mußte die Nullhypothese (Zufallsverteilung der Rangfolgen von Tag 0, 3 und 20) beibehalten werden.
Auffallend sind dennoch die am Tag 3 auftretenden starken Schwankungen (Anstieg bzw. Abfall der Cpm-Raten) der Lymphozytenreagibilität, die sich am zwanzigsten Tag deutlich im Sinne einer Rückkehr zum Ausgangswert ausgleichen.
Auch wenn man die bereits beim Normalkollektiv beobachteten Schwankungen berücksichtigt, ist dies beachtenswert und erlaubt den Schluß einer unspezifischen Alteration des Immunsystems nach kurzfristiger Haloperidolgabe, die sich nach längerfristiger Medikation wieder zu normalisieren scheint.
Analog zum Vorgehen bei den Normalpersonen wurde auch in der Haloperidolgruppe ein Patient herausgegriffen und repräsentativ sämtliche Mitogenstimulationen in einem Diagramm dargestellt (Abbildung 3).
Es zeigt sich, daß bis auf ATG (gestrichelte Linien) alle Mitogene eine identische Veränderung der Stimulationsraten am Tag 3 und Tag 20 gegenüber dem Ausgangswert aufweisen, hier also ein Anstieg der Cpm-Raten nach 3 Tagen Haloperidoleinnahme, gefolgt von einem Abfall nach 20 Tagen.
Sehr deutlich macht dieses Beispiel auch, in welchem Cpm-Bereich die einzelnen Mitogene bei einer einzelnen Blutprobe stimulieren. Während ATG hohe Werte aufweist, bilden PWM und STE (jeweils in der höheren Konzentration) die untere Grenze. PHA und ConA liegen, wie auch bei der Mehrzahl der anderen Patienten, in einem mittleren Stimulationsbereich. Hier ist meist auch STE_1 zu finden, wohingegen PWM_1 mehr im unteren Bereich zu finden ist.

Vergleicht man generell die Mitogenstimulationen der Haloperidolgruppe mit dem Normalkollektiv, so fällt die größere Standardabweichung der Lymphozytenreaktion bei der Patientengruppe auf.

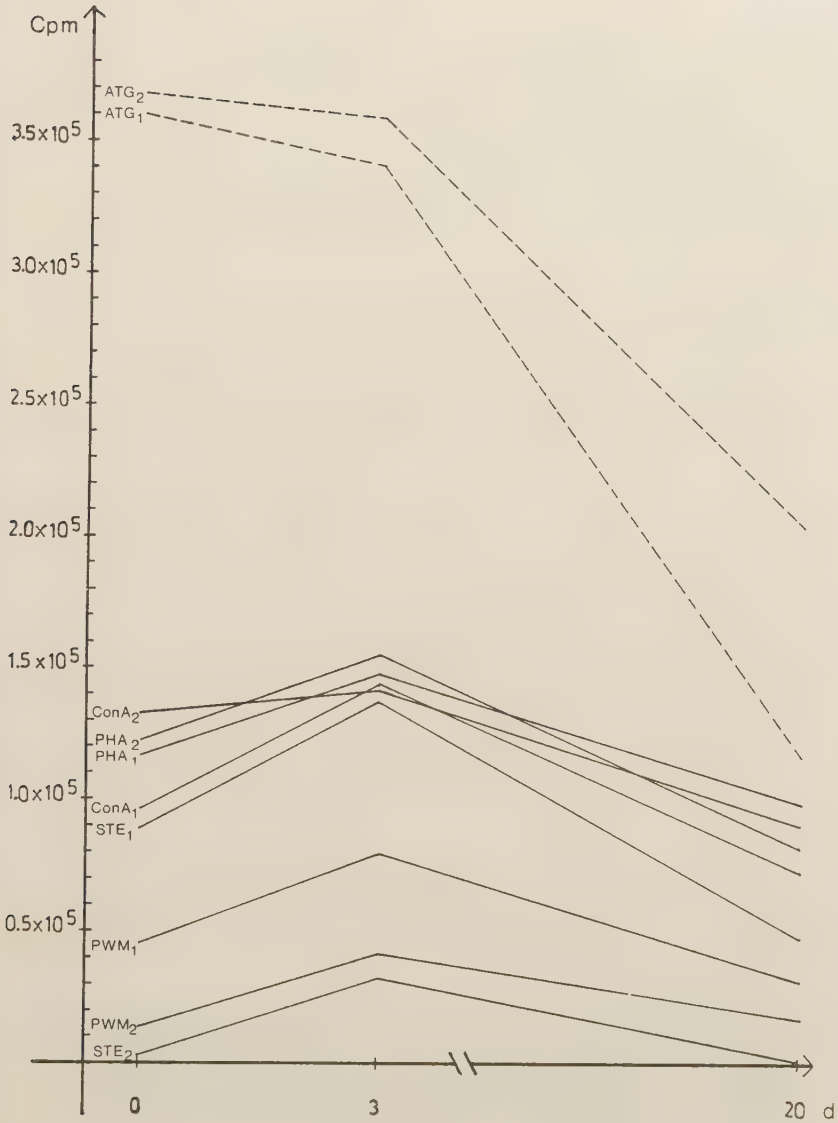

Abb. 3 zeigt einen aus der Haloperidol-Gruppe herausgegriffenen Patienten bei dem sämtliche Mitogenstimulationen am Tag 0, 3 und 20 eingetragen sind.

In Abbildung 4 sind am Beispiel der PHA_1-Stimulation die Standardabweichungen übereinander projiziert.
Bemerkenswert ist, daß die Standardabweichung am dritten Tag der Medikation bei allen Mitogenen (mit Ausnahme wiederum des ATG) am größten ist. Dies scheint die gemachte Aussage einer Alteration des Immunsystems nach kurzfristiger Haloperidoleinnahme zu bestätigen.

5.2.2.3. Einfluß der Haloperidol-Dosierung

Um eine mögliche Beziehung zwischen der Dosierung von Haloperidol und dem Ausmaß der Lymphozytenstimulation nachweisen zu können, wurde die täglich applizierte Haloperidolmenge protokolliert.

Laut Benkert und Hippius (6) sollte die antipsychotische Behandlung mit Haloperidol Jansen, wenn möglich einschleichend, mit dreimal 0,5 mg täglich peroral begonnen werden. Die stationäre Erhaltungsdosis, die nach 7 Tagen erreicht sein sollte, liegt bei etwa 2 bis 6 mg peroral. Es wird jedoch betont, daß bei bestimmten Patienten sehr viel höhere Dosen ohne Nebenwirkungen vertragen werden. So empfehlen Schulte und Tölle (50) bei akuten (beispielsweise katatonen) Zuständen eine Dosierung von 3 bis 20 mg oral/die und einige Autoren (12, 29) berichten sogar über erfolgsreiche Anwendungen von Haloperidolmengen bis zu 100 mg/die bei chronisch schizophrenen Zuständen.
In der vorliegenden Untersuchung kam es nach 3 Tagen Haloperidolanwendung zu einer durchschnittlichen Tagesdosis von 16,5 $\pm$ 9,8 mg. Die durchschnittliche Tagesdosierung nach 20 Tagen lag bei 18,7 $\pm$ 10,9 mg.
Da sich die einzelnen Dosierungen in einem teilweise sehr hohen Bereich befanden (in der Mehrzahl handelte es sich um Erstmanifestationen einer schizophrenen Psychose oder um akute psychotische Schübe), wäre eine dosisabhängige Veränderung der Stimulationsraten durchaus zu erwarten.

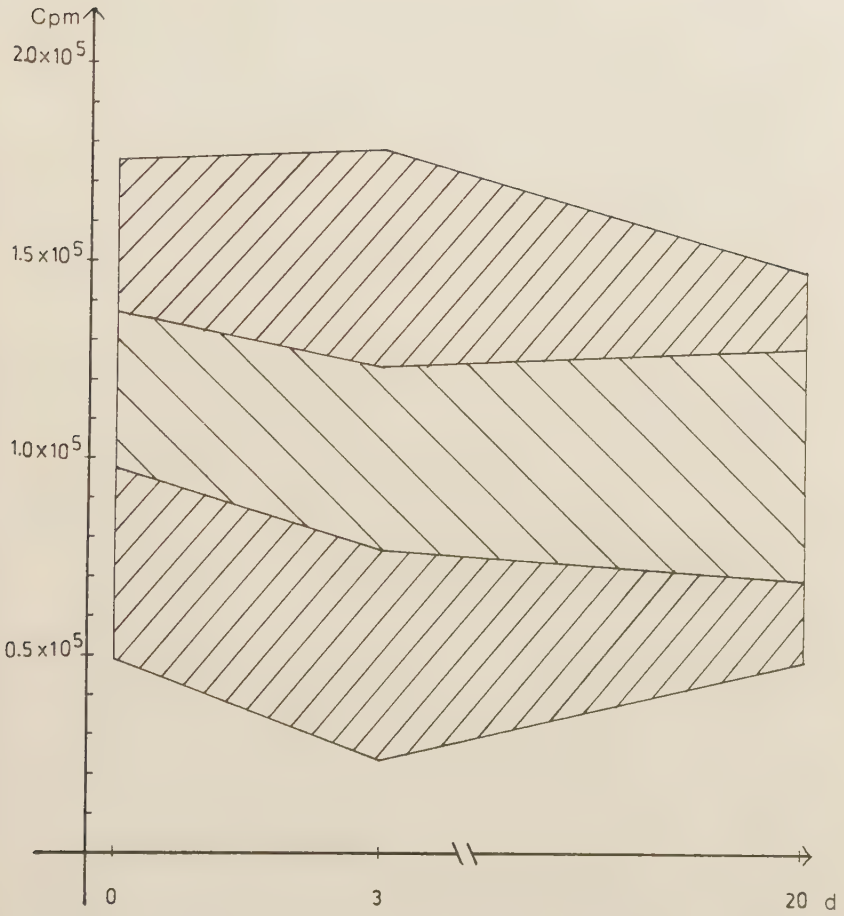

Abb. 4: Bereich der Standardabweichung der mit Haloperidol behandelten Patienten bei PHA_1 (1µg/ml)-Stimulation = enggestreifter Bereich. Darüber projiziert der Bereich der Standardabweichung des Normalkollektivs bei PHA_1-Stimulation = breitgestreifter Bereich.

Betrachtet man aber nun die Veränderungen ma Tag 3, so läßt sich keine Abhängigkeit der Stimulationsraten zur Dosierungshöhe von Haloperidol feststellen. Nur in einem Fall bedeutete die enorme Tagesdosis von 41 mg auch eine stark erniedrigte Cpm-Rate. Dafür befinden sich jedoch die 2 weiteren Patienten mit ähnlich extremer Dosierung (jeweils 33 mg/die) in der Gruppe von 11 Personen, die eine erhöhte Stimulation am Tag 3 gegenüber Tag 0 aufweisen. Die Medikation der 9 Patienten, bei denen es zu einer Lymphozytendepression kommt, liegt zudem meist im mittleren Dosisbereich (siehe dazu auch Abb. 5).

Auch am zwanzigsten Tag läßt sich trotz der im Mittel sogar noch gesteigerten Dosierung keine lineare Beziehung der Stimulationswerte zur Dosierungsgröße finden (Korrelationskoeffizient r = — 0,127). Bei hoher Medikamentendosis (als Beispiel siehe den repräsentativ herausgegriffenen Patienten von Abb. 3, S. 31, der nach 20 Tagen eine Gesamtdosis von 910 mg, d.h. eine durchschnittliche Tagesdosis von 45 mg erhalten hat) besteht also im Verlauf kein signifikanter Unterschied zu üblichen Dosierungen von 5 bis 6 mg/die.
Auch die 3 bereits erwähnten, in allen Mitogenstimulationen in einem erhöhten Cpm-Bereich liegenden Patienten, die zudem starke Schwankungen an den drei Terminen zeigten, liegen durchwegs in einem mittlerem Dosierungsbereich.

5.2.3. Gemeinsame Besprechung der Haloperidol-Taxilan-Gruppe bzw. Haloperidol-Neurocil-Gruppe

5.2.3.1. Vorstellung der Neuroleptika Taxilan bzw. Neurocil

Dieser Patientenkreis (insgesamt 8 Patienten) wurde ebenfalls mit Haloperidol behandelt, zusätzlich dazu wurden jedoch noch Taxilan bzw. Neurocil in zum Teil beträchtlichen Dosen angewandt.

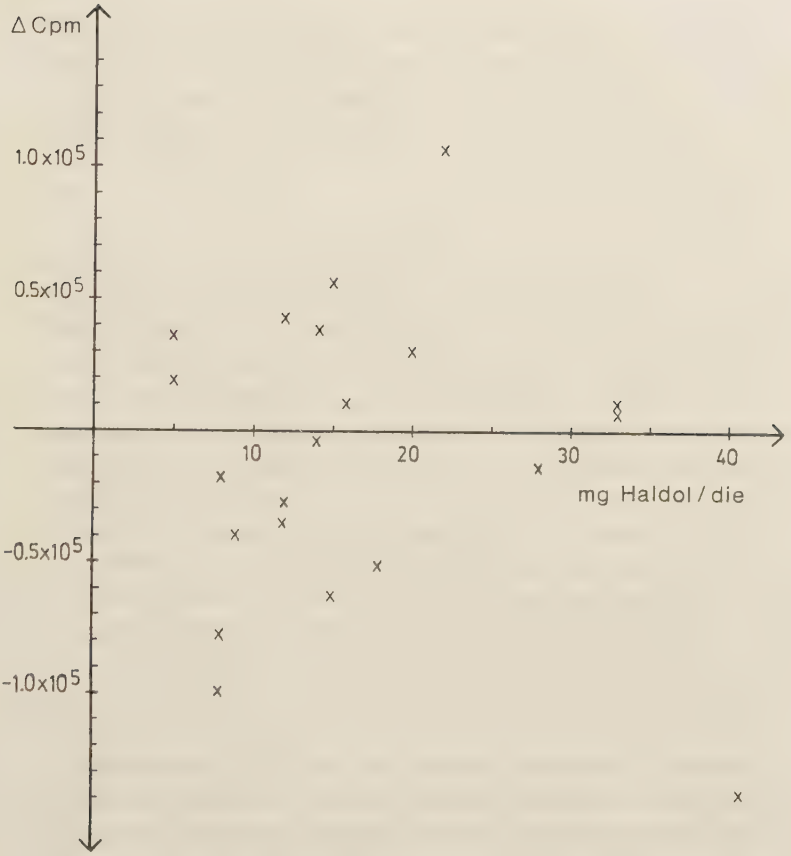

Abb. 5 zeigt bei den 21 Patienten der Haloperidolgruppe die Veränderung der Stimulationsraten Δ Cpm (d.h. Anstieg bzw. Abfall der Cpm-Werte bezogen auf den Wert von Tag 0) nach 3 Tagen Haloperidolmedikation bei PHA_1-Stimulation.
Es findet sich keine lineare Korrelation der Höhe der Stimulationsraten zur applizierten Haloperidoldosis ($r = - 0{,}136$).

Da beide Neuroleptika zudem noch zu einer anderen chemischen Gruppe zählen, nämlich den Phenothiazinen, müssen von der Versuchskonzeption her diese Patienten gesondert besprochen werden. Deshalb wurden diese Personen nicht der reinen Haloperidolgruppe zugeordnet, sondern in 2 Gruppen getrennt (Haldol-Taxilan-Gruppe bzw. Haldol-Neurocil-Gruppe).

Bei dem verwendeten tricyclischen Neuroleptikum Taxilan handelt es sich chemisch um ein 10-(3-(4-methyl-1-piperazinyl)-propyl)-phenothiazin mit guten antipsychotischen Eigenschaften und schnellem Wirkungseintritt. Die hauptsächliche Indikation liegt in der Behandlung psychotischer Zustandsbilder, chronisch verlaufender schizophrener Psychosen, sowie psychomotorischer Erregungszustände. An Nebenwirkungen sind extrapyramidalmotorische Symptome, Störung des Vegetativums (Mundtrockenheit, Akkomodationsstörungen, Obstipation), sowie Blutbildveränderungen (passagere Leukopenien oder Leukozytosen, im Extremfall sogar Agranulozytosen) bekannt. Auch bei diesem Neuroleptikum sollte in der ersten Behandlungswoche einschleichend dosiert werden. Bei der stationären Langzeitbehandlung liegt die Erhaltungsdosis bei 75 bis 600 mg, eventuell bei 1000 mg täglich (6).

Das ebenfalls verwendete Neuroleptikum Neurocil , chemisch ein 10-(3-dimethylamino-2-methyl-propyl)-2-methoxy-phenothiazin eignet sich bei psychiatrischen Akutsituationen zur initialen Dämpfung des Patienten. Zudem wird die stark schlafanstoßende Wirkung und antidepressive Eigenschaft therapeutisch genutzt. Als Kontraindikationen gelten akute Schlafmittel-, Opiat- und Alkoholintoxinationen, Leber- und Nierenschäden, sowie kardiovaskuläre Erkrankungen. Zur Dosierung wird bei antipsychotischer Behandlung ohne Akutsituation eine anfängliche Dosis von dreimal 25 mg vorgeschlagen, die bei ambulanter Therapie bis 200 mg, bei stationärer Therapie bis zu einer Maximaldosis von 1000 mg täglich gesteigert werden kann (6).

Aufgrund der geringen Fallzahl wird in beiden Gruppen auf eine ausführliche Besprechung der einzelnen Mitogenstimulationen verzichtet und dafür die Kurvenverläufe en bloc diskutiert:

5.2.3.2. Diskussion der Haldol-Taxilan-Gruppe

In allen 5 Mitogenstimulationen ist eine Teilung in je 2 Personen erkennbar. Dabei weist die eine Gruppe jeweils sehr niedrige Cpm-Raten, aber identische Kurvenverläufe in allen Stimulationen auf (Ausnahme ATG). Die anderen beiden wesentlich höher stimulierenden Patienten zeigen starke Schwankungen von Tag 3 und Tag 20 gegenüber dem Wert von Tag 0, wobei diese Veränderungen, auch bei unberücksichtigtem ATG, zum Teil völlig gegensätzlich verlaufen. Eine einheitliche Tendenz läßt sich sowohl am Tag 3 als auch am Tag 20 nicht erkennen.
Aufgrund der geringen Fallzahl konnte bei dieser Gruppe kein Nachweis geführt werden, ob die teils sehr starken Veränderungen in der Lymphozytenstimulation auf das angewandte Taxilan zurückzuführen sind. Zur Klärung dieser Frage trägt auch die Berücksichtigung der unterschiedlichen Dosierung nicht bei, da keine Zuordnung der Dosierungshöhe zur Veränderung der Stimulationswerte zu erkennen war. So kann bei hoher Neuroleptikamedikation bei verschiedenen Personen sowohl eine erhöhte als auch eine erniedrigte Stimulation gegenüber dem Ausgangswert beobachtet werden.
Die Dosierung von Taxilan liegt bei den 4 aufgeführten Patienten durchaus innerhalb der empfohlenen Bandbreite (bis zum dritten Tag eine durchschnittliche tägliche Dosis von 448g; bis zum zwanzigsten Tag von 516 mg), wohingegen die Haldoldosierungen generell erhöht sind (im Durchschnitt 13 mg täglich bis zum dritten Tag und 16 mg täglich bis zum zwanzigsten Tag).

5.2.3.3. Diskussion der Haloperidol-Neurocil-Gruppe

Die 4 Patienten dieser Gruppe zeigen mit ihren Stimulationswerten im Vergleich zur Haloperidol-Taxilan-Gruppe einen geringeren Schwankungsbereich.
Zudem laufen die Veränderungen an den beiden Terminen bei allen Mitogenen, mit Ausnahme von ATG, annähernd parallel. Trotz der geringen Fallzahl erinnern die Kurvenverläufe sehr an die Ergebnisse der reinen Haloperidolpatienten. Auch hier zeigen sich am dritten Behandlungstag starke Veränderungen in der Stimulierbarkeit der Lymphozyten, die sich am zwanzigsten Tag wiederum auf das Niveau der unbehandelten Ausgangssituation einpendeln. Vergleichbar ist auch in beiden Gruppen der Stimulationsbereich der einzelnen Mitogene, d.h. ein in mittlerem Cpm-Bereich stimulierendes PHA und ConA, ein durchwegs niedrig stimulierendes PWM und ein ATG, das eine Sonderstellung erneut durch stark abweichende Kurvenverläufe und hohe Stimulationswerte einnimmt. Auch in dieser Gruppe ergab sich neben einem mitteldosierten Neurocil (ca. 60 mg/die bis zum dritten Tag und ca. 50 mg/die bis zum zwanzigsten Tag) eine erhöhte Haldolmedikation (im Durchschnitt ca. 15 mg/die).

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß sich eine Eigenständigkeit dieser beiden Medikamentengruppen gegenüber den nur mit Haloperidol behandelten Patienten nicht gezeigt hat. Ob die beiden in einem hohen Cpm-Bereich liegenden und teilweise different stimulierbaren Patienten der Haloperidol-Taxilan-Gruppe aufgrund des Taxilans unterschiedliche Verläufe zeigen, kann aufgrund der geringen Fallzahl nicht geklärt werden.

5.3. Diskussion der Variablen

Da das gesunde Normalkollektiv Schwankungen der Mitogenantwort im Beobachtungszeitraum von 20 Tagen aufweist, scheint eine Betrachtung der Parameter angezeigt, die die Stimulationsraten beeinflussen können.

5.3.1. Verfahrenstechnische Variable

5.3.1.1. Zeitpunkt der Verarbeitung der Blutproben

Prinzipiell wurde versucht, die Blutproben unmittelbar nach Abnahme zu verarbeiten. Da jedoch die Abnahmen der ersten Blutproben (= Nullwert) von akut in die Klinik eingelieferten Patienten zu den verschiedensten Zeitpunkten des Tages vorgenommen wurden, konnten diese Blutproben nicht unmittelbar weiterverarbeitet werden. Die Auswertung von Blutproben, bei denen sich die Verarbeitung verzögert hatte (maximal 24 Stunden), ergab keine Korrelation zu einer verminderten Stimulationsfähigkeit der Patienten-Lymphozyten.

5.3.1.2. Variationen beim Einfrier- und Auftauvorgang

Aus arbeitstechnischen Gründen war es nicht möglich, alle kryokonservierten Patienten-Lymphozyten in einem Arbeitsgang aufzutauen und anschließend Mitogenstimulationen anzulegen. Dies mußte in insgesamt 15 Ansätze aufgeteilt werden. Trotz der Bemühungen, den standardisierten Ablauf des Verarbeitungsverfahrens einzuhalten, ergaben sich durch die Technik des Kryokonservierens (unterschiedlich schnelle Zugabe von DMSO), den Auftauvorgang (unterschiedliche Auswaschgeschwindigkeit von DMSO), sowie durch die Verwendung verschiedener AB-Serum-Chargen Variationen, die mehr oder weniger unvermeidbar waren. So kann im Extremfall ein stark erniedrigter Stimulationswert auch durch

einen Verfahrensfehler und nicht durch die Neuroleptikagabe, bedingt sein.
Insgesamt zeigen die dargestellten Resultate, daß technische Verfahrensfehler nicht die hauptausschlaggebende Komponente für die beobachtete Variationsbreite sein können.

5.3.2. Alter der Patienten

Für die 4 ältesten Patienten (56, 60, 63 und 67 Jahre) ist auffallend, daß sich deren Stimulationen zu allen drei Terminen in einem sehr niedrigen Bereich bewegen, wobei die beiden ältesten Patienten die 90000 Cpm-Grenze nicht überschreiten.
Auf der anderen Seite lassen sich jedoch bei den untersuchten 8 Patienten unter 25 Jahren keine auffallend hohen Stimulationsraten feststellen.
Diese Ergebnisse stehen im Einklang zu den von Cohnen et al. (10) gemachten Beobachtungen, daß die in-vitro Lymphozytenreaktivität gegenüber Mitogenen bei älteren Personen (in der angegebenen Referenz ab dem 65. Lebensjahr) erniedrigt ist. Verantwortlich dafür scheint eine verringerte absolute Zahl der zirkulierenden T-Lymphozyten im Alter zu sein, wobei keine signifikante altersabhängige Veränderung der B-Lymphozytenzahl festgestellt wurde.

5.3.3. Circadiane Rhythmen der Lymphozytenstimulation

Eine Vielzahl von Abhandlungen beschäftigt sich mit dem Einfluß von Corticosteroiden auf Lymphozytenzahl und Stimulierbarkeit peripherer Blutlymphozyten. So beschreiben Heilman et al. (27), Yu et al. (64), Webel et al. (58) und Fauci (19) sowohl eine Abnahme zirkulierender Lymphozyten (vor allem die T-Zellsubpopulation betreffend) als auch eine verminderte in-vitro Lymphozytenstimulierbarkeit nach Applikation verschiedener Dosen von Kortisonderivaten.

Diese Beobachtungen stehen in Einklang zu dem von Escola et al. (17) beschriebenen, negativ zum Plasmacortisolspiegel korrelierten, circadianen Rhythmus der PHA-induzierten Lymphozytenstimulation.
Auch wenn dem Tavadia et al. (54) widerspricht, indem er von einer positiven Korrelation der Lymphozytenantwort zum Cortisolspiegel spricht, so ist doch hieraus zu folgern, daß Studien, bei denen Lymphozytenstimulationen verglichen werden, auch im Hinblick auf den Blutabnahmezeitpunkt standardisiert werden sollten.
Gerade diese Forderung scheiterte aber in der vorliegenden Untersuchung an den klinischen Gegebenheiten. Bei den hier untersuchten Patienten handelte es sich größtenteils um akut auftretende schizophrene Psychosen, die einer sofortigen Behandlung bedurften. Aufgrund der Akuität des Krankheitsbildes und der sich daraus ergebenden Notwendigkeit der sofortigen Therapie wurden die Blutproben für den Nullwert, dem bei dieser Longitudinalstudie entscheidende Bedeutung zukommt, zu den unterschiedlichsten Tages- und Nachtzeiten abgenommen.

5.3.4. Zusätzliche Medikation

Aus dringender medizinischer Indikation gegebene Medikamente, wie Antibiotika oder vorübergehend Sedativa, wie Chloraldurat oder Benzodiazepine, konnten während der 20 Behandlungstage nicht verhindert werden. Ebensowenig ist, trotz intensiver Befragung, eine gelegentliche Einnahme von Schmerz-, Schlaf- und Beruhigungsmitteln, im Zeitraum von 4 Wochen vor der Klinikaufnahme völlig auszuschließen.
Da der Einfluß all dieser Medikamente auf das Immunsystem zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch ungenügend untersucht ist, kann die Wirkung der in einigen Fällen erfolgten Zusatzmedikation nicht exakt abgegrenzt werden. Diesen Gegebenheiten wurde insoweit Rechnung getragen, daß nachträglich einige Patienten (N=7) aufgrund einer zu intensiven Nebenmedikation aus der Studie entfernt wurden.

6. Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Beeinflussung der zellulären Immunreaktionslage nach Neuroleptikagabe.

Nach Auswahl der Patienten entsprechend folgender Kriterien: keine vorherige Behandlung, keine Begleitmedikation, Ausschluß anderer chronischer Erkrankungen, ergaben sich drei Medikamentengruppen:

1. 21 Patienten, die ausschließlich mit Haloperidol behandelt wurden.
2. 4 Patienten mit kombinierter Haloperidol/Taxilan-Behandlung.
3. 4 Patienten mit kombinierter Haloperidol/Neurocil-Behandlung.

Blutproben dieser Patienten wurden im Rahmen einer Longitudinalstudie bei Klinikaufnahme, d.h. vor der Behandlung, 3 Tage und 20 Tage nach Neuroleptikamedikation einer Lymphozytenstimulation in-vitro unterworfen.
Stimuliert wurde mit 5 verschiedenen Mitogenen (PHA = Phytohaemagglutinin, ConA = Concanavalin A, PWM = Pokeweed Mitogen, ATG = Antithymozytenglobulin und STE = Staphylokokken-Enterotoxin) in jeweils zwei verschiedenen Konzentrationen.

Zur Lymphozytenstimulierung wurde folgende Standardisierung eingesetzt:
Aus sämtlichen Blutproben wurden die Lymphozyten separiert, in einem kryobiologischen Einfrierverfahren auf - 80°C abgekühlt und unter flüssigem Stickstoff (- 196°C) aufbewahrt. Nach Kollektivierung aller Blutproben wurden in 15 Versuchsansätzen die Patientenlymphozyten aufgetaut und in MICROTITER-Platten, in denen die o.g. Mitogene in lyophilisierter Form eingebracht waren, für 3 Tage unter Zellkulturbedingungen inkubiert.
Nach radioaktiver Markierung mit H3-Thymidin am dritten Tag und Inkubation für weitere 16 Stunden wurden die Lymphozyten auf

inkorporiertes H3-Thymidin untersucht. Mit Hilfe der Flüssigkeitsszintillations-Meßtechnik konnten die Isotop-Einbauraten, gemessen in Counts pro minute (Cpm), ermittelt werden.
Um bei der Auswertung arzneimittelinduzierte Wirkung von verfahrensbedingten Schwankungen abzugrenzen, wurde zusätzlich ein Normalkollektiv von 11 gesunden Probanden im identischen Versuchsansatz getestet.

Die Auswertung der ausschließlich mit Haloperidol therapierten Patientengruppe ergab keine einheitliche Veränderung der Lymphozytenreaktion im Sinne einer Hemmung bzw. Steigerung, sowohl nach 3-tägiger als auch nach 20-tägiger Medikation. Statistisch wurde dies durch den Friedmann-Test, einer Ringvarianzanalyse für unverbundene Stichproben, geprüft. Die von Baker et al. (4) bzw. Trancheva (57) beobachtete Hemmung der Lymphozytenreaktion bei in-vitro Zugabe von Neuroleptika hat sich ebenso wie die von Özek et al. (37) beschriebene "verbesserte Reaktionsbereitschaft des Organismus unter Neuroleptikabehandlung" in der vorliegenden in-vivo Studie also nicht bestätigt.

Bemerkenswert ist jedoch die starke Streuung der Stimulationsraten am Tag 3 gegenüber dem Ausgangswert, die am zwanzigsten Behandlungstag nicht mehr zu beobachten war.
Dieses Ergebnis spricht für eine unspezifische Alteration der zellulären Immunreaktionslage kurzfristig nach Haloperidolmedikation, die trotz weiterer Medikation nach 20 Tagen wieder normalisiert war.
Ein Vergleich der Reaktionslage auf die einzelnen Mitogene ergab einen durchwegs einheitlichen Verlauf bei PHA, ConA und mit Einschränkung (wegen der vergleichsweise geringen Stimulationskapazität) bei PWM. Die Mitogene ATG und STE nehmen aufgrund der Kurvenverläufe und hohen Standardabweichung eine Sonderstellung ein.

Trotz im Einzelfall sehr hoher Haloperidoldosierungen (im Bereich von Über 30 mg/die) ließ sich keine Abhängigkeit der Kurvenverläufe zur Dosis feststellen.
Eine Eigenständigkeit bzw. Besonderheit der beiden anderen untersuchten Medikamentengruppen (Haloperidol/Taxilan-Gruppe bzw. Haloperidol/Neurocil-Gruppe) ließ sich aufgrund der geringen Fallzahl nicht statistisch abgesichert zeigen.

7. Anhang

Diagramme sämtlicher Mitogenstimulationen

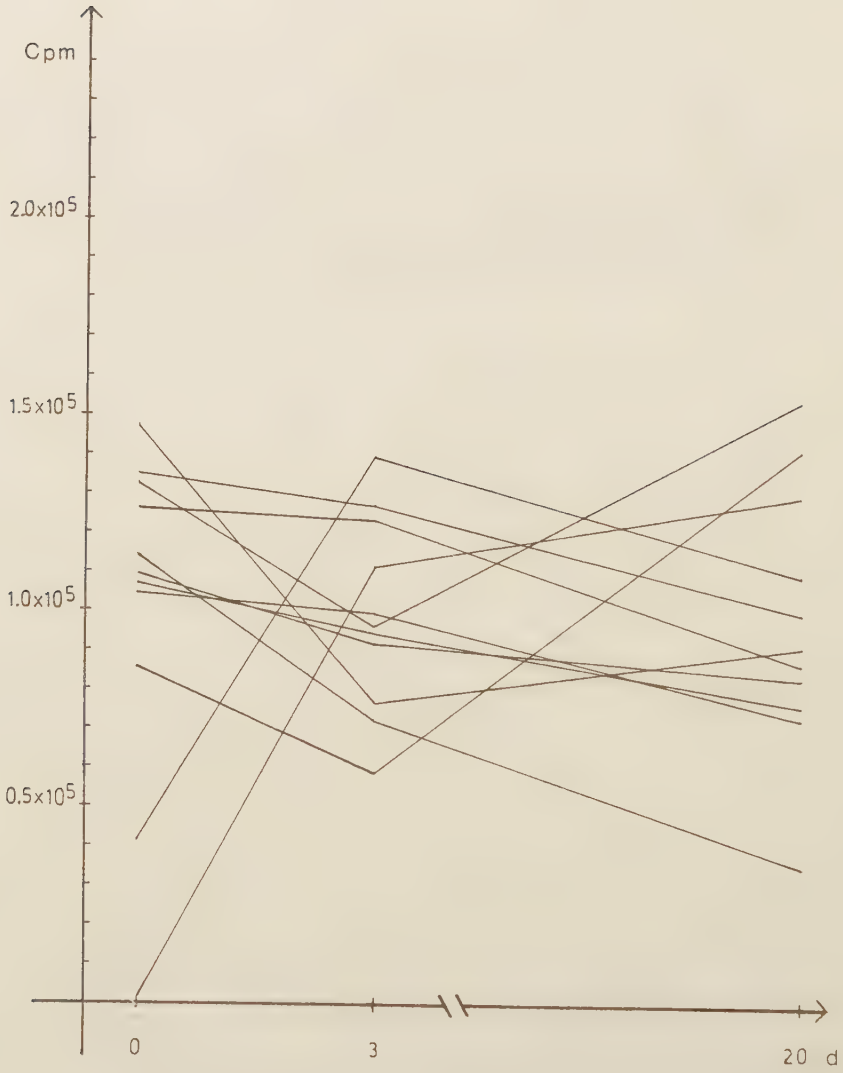

Abb. 6: Mitogenstimulation mit PHA_1 (0,2 µg) bei elf gesunden Probanden.

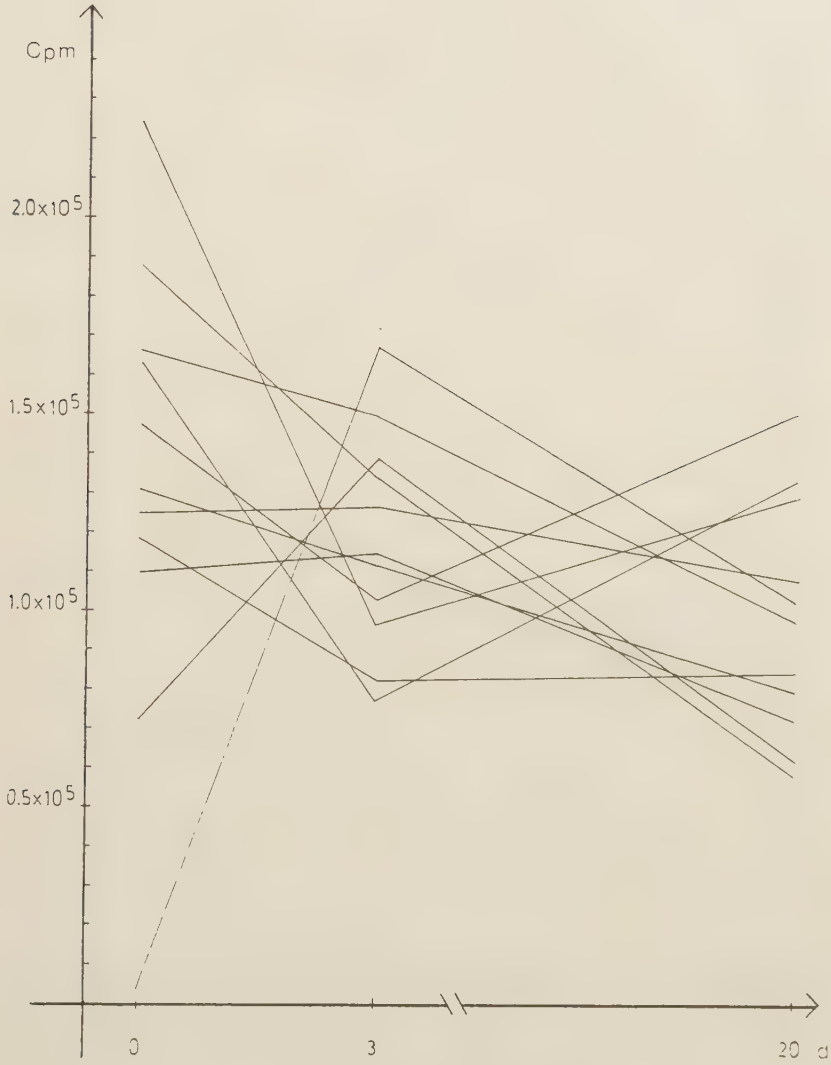

Abb. 7: Mitogenstimulation mit PHA_2 (0,4 µg) bei elf gesunden Probanden.

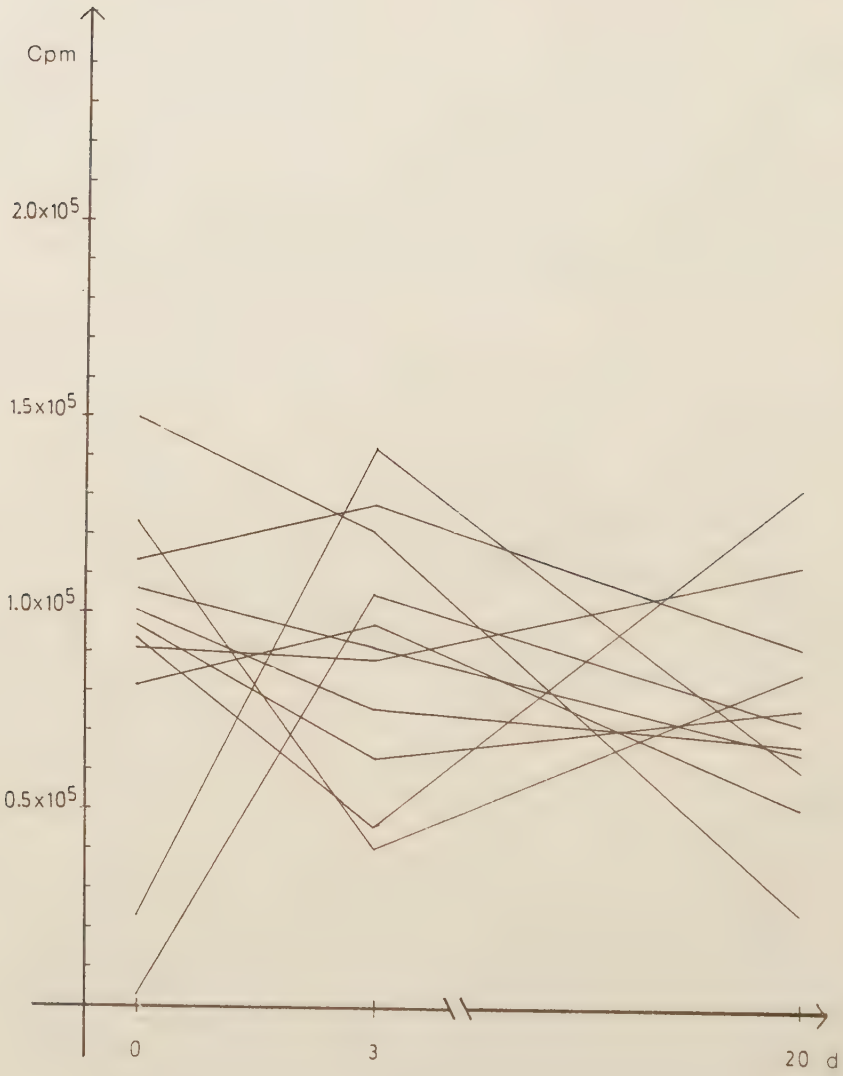

Abb. 8: Mitogenstimulation mit $ConA_1$ (2,0 µg) bei elf gesunden Probanden.

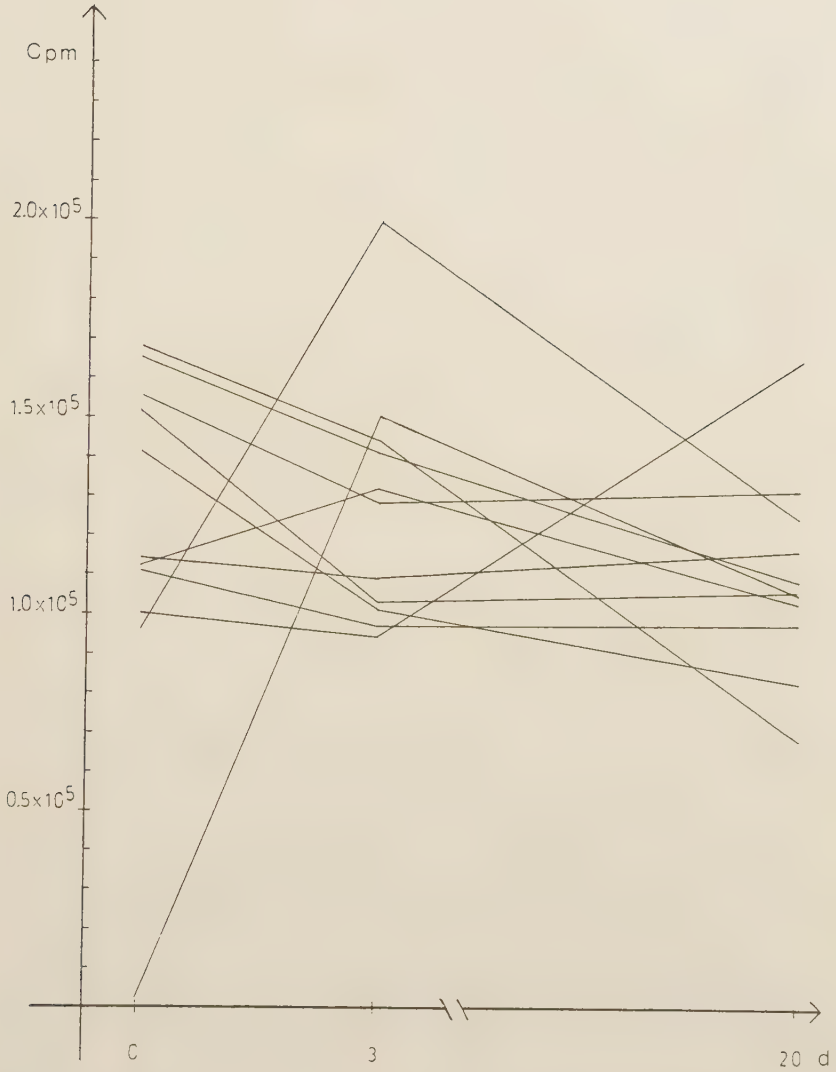

Abb. 9: Mitogenstimulation mit $ConA_2$ (3,0 µg) bei elf gesunden Probanden.

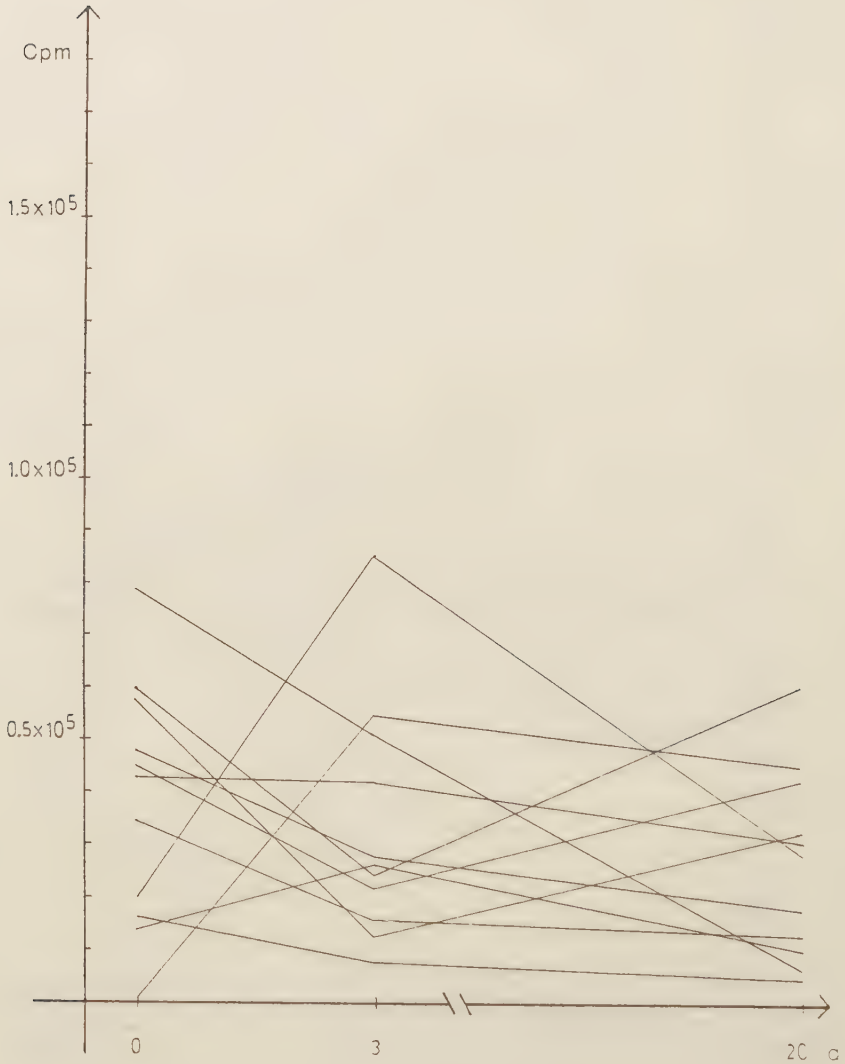

Abb. 10: Mitogenstimulation mit PWM_1 (0,5 µg) bei elf gesunden Probanden.

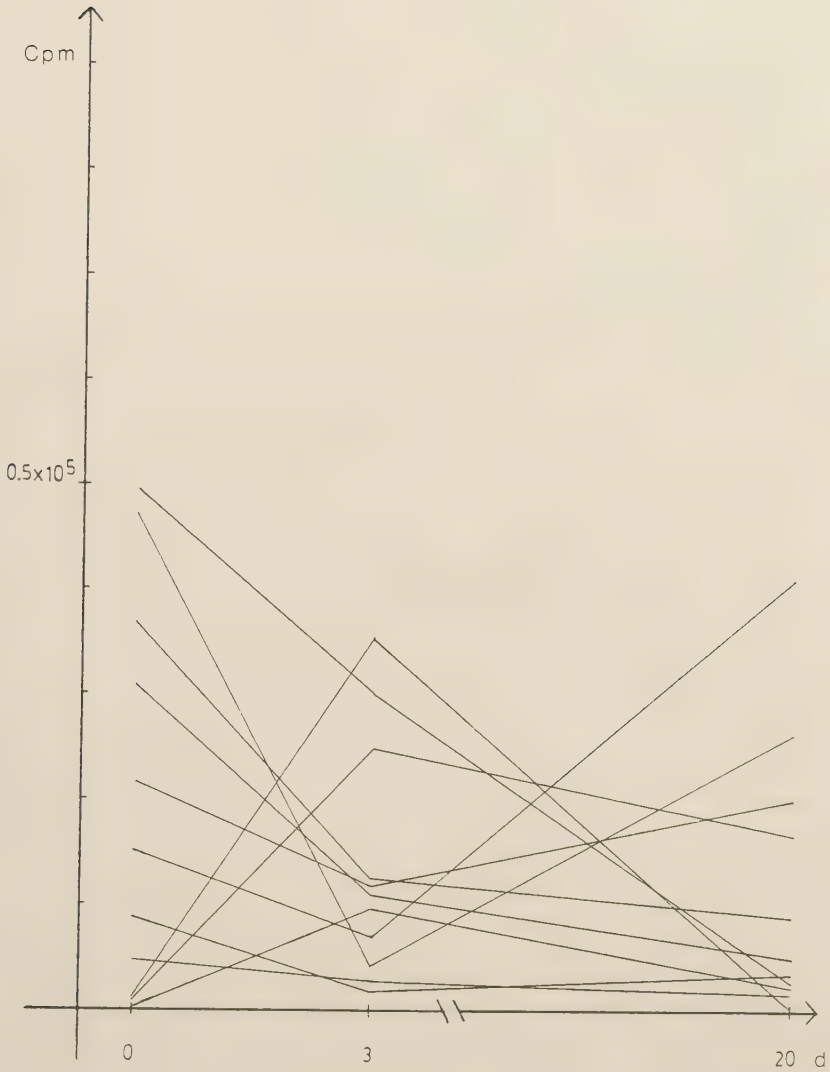

Abb. 11: Mitogenstimulation mit PWM_2 (1,0 µg) bei elf gesunden Probanden.

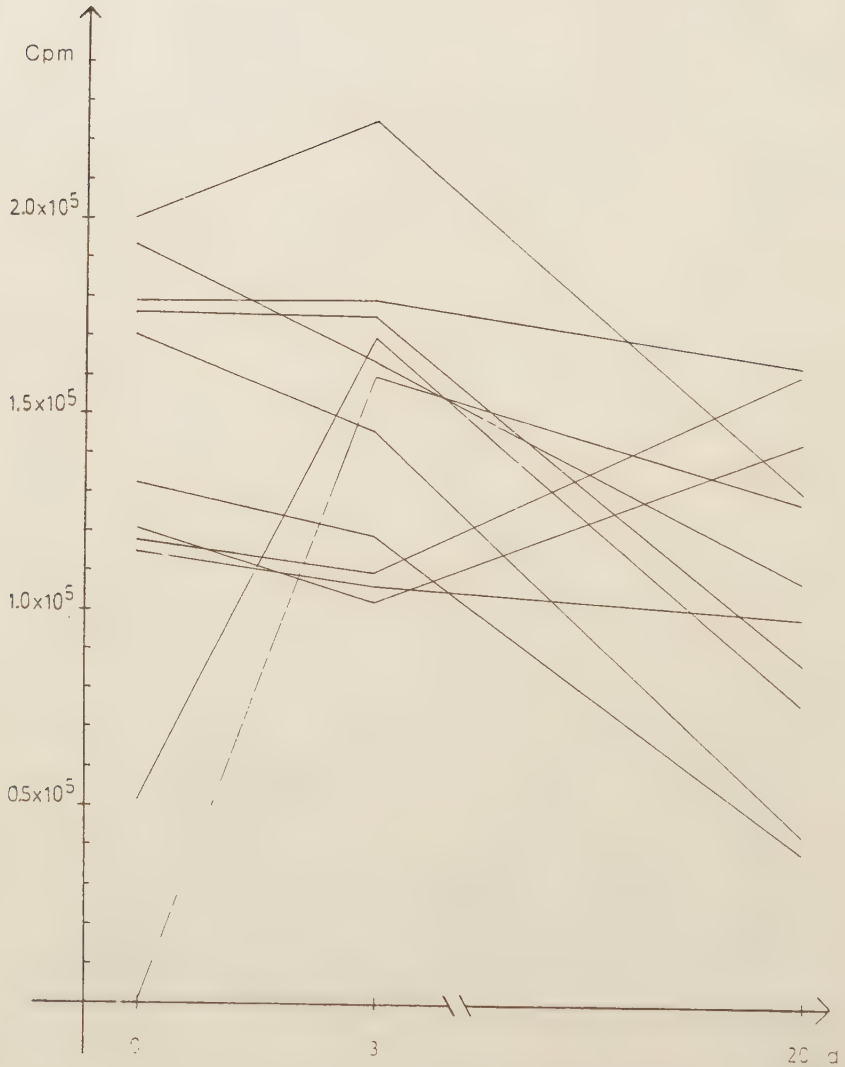

Abb. 12: Mitogenstimulation mit ATG, (1 : 16) bei elf gesunden Probanden.

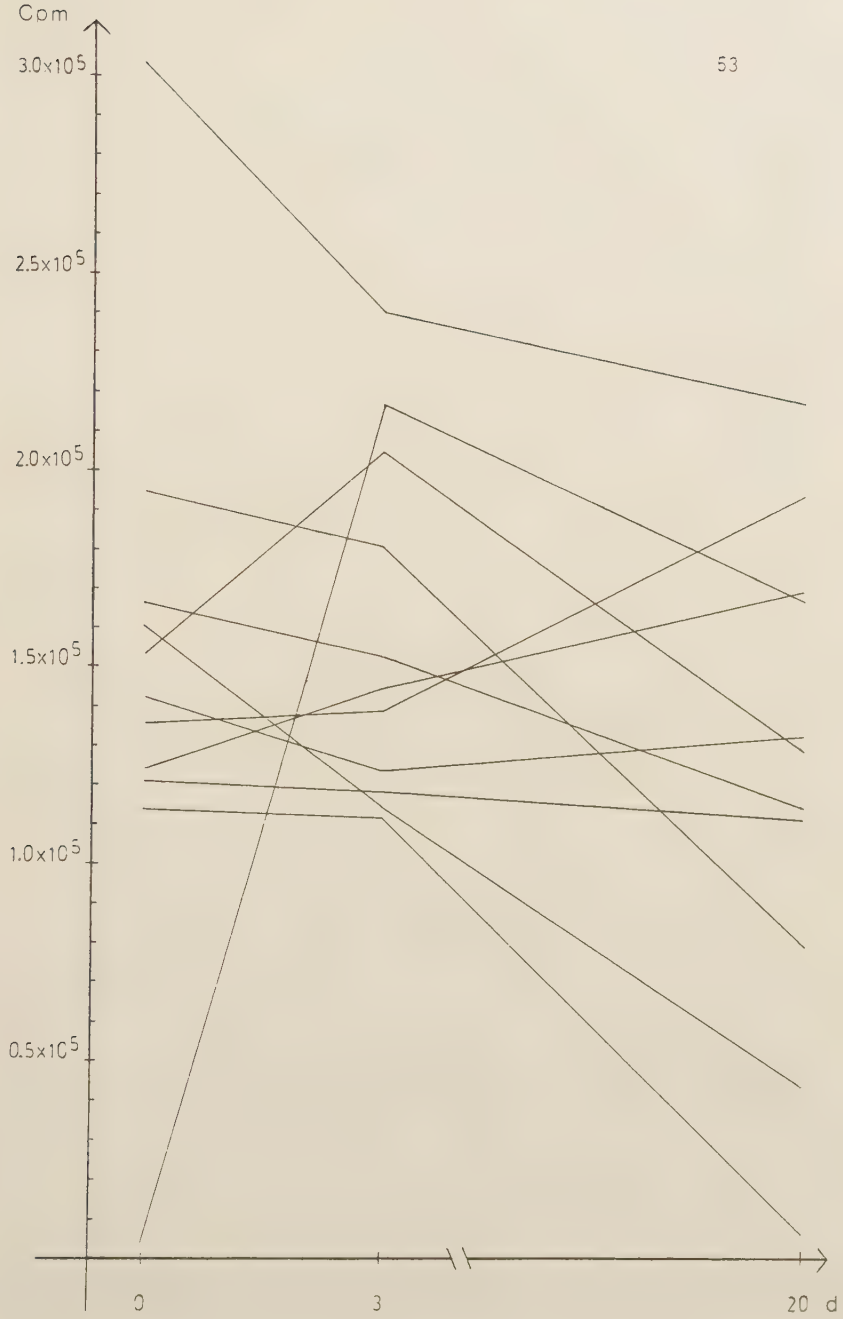

Abb. 13: Mitogenstimulation mit ATG_2 (1 : 32) bei elf gesunden Probanden.

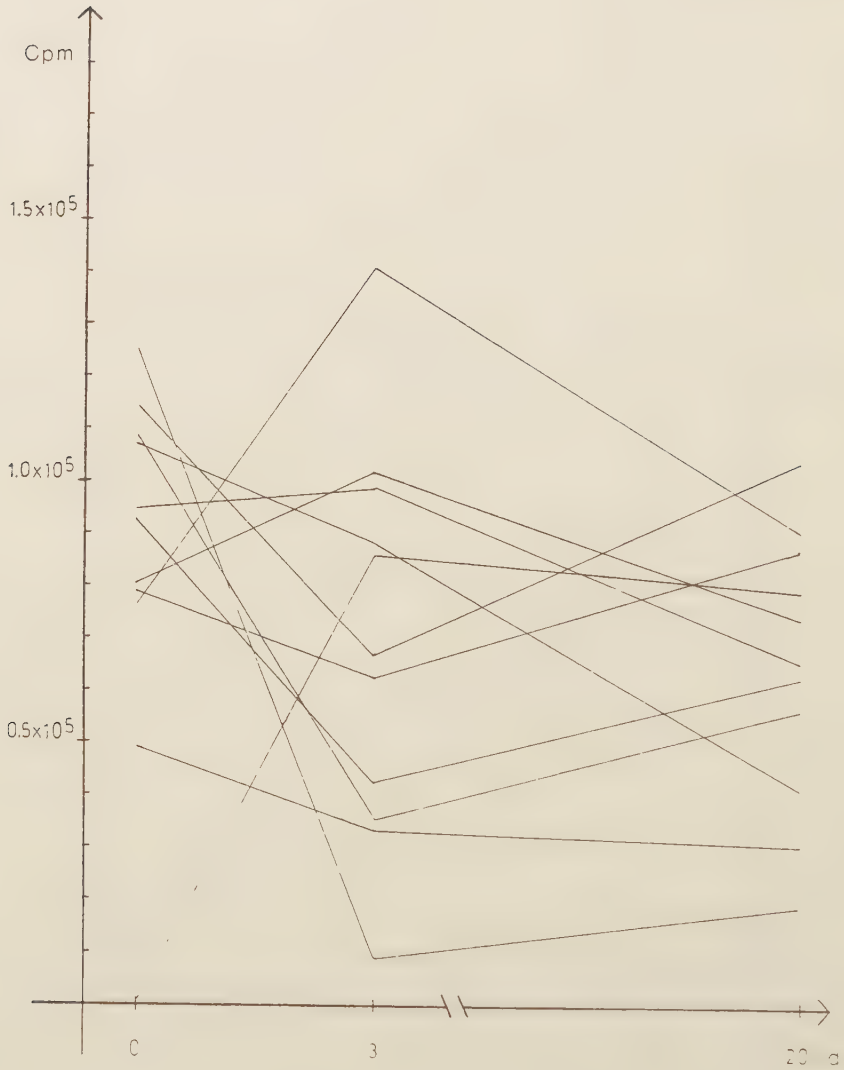

Abb. 14: Mitogenstimulation mit STE_1 (0,01 µg) bei elf gesunden Probanden.

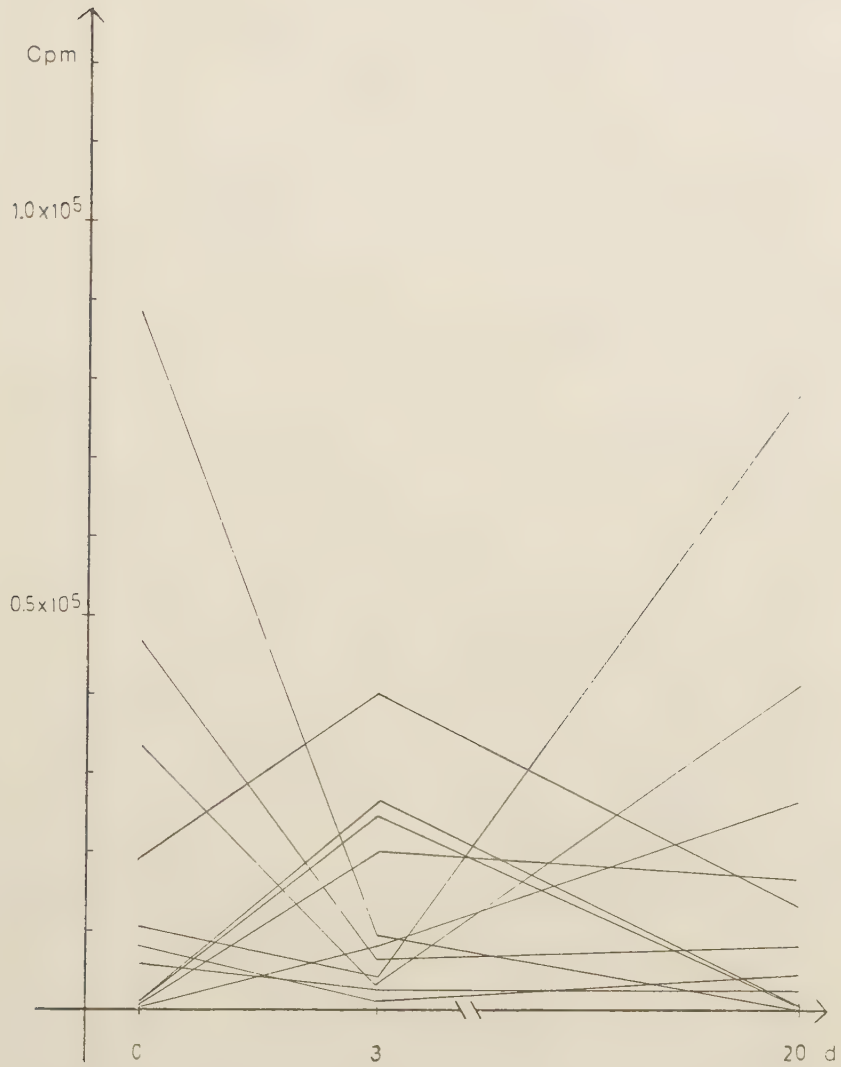

Abb. 15: Mitogenstimulation mit STE_2 (0,02 µg) bei elf gesunden Probanden.

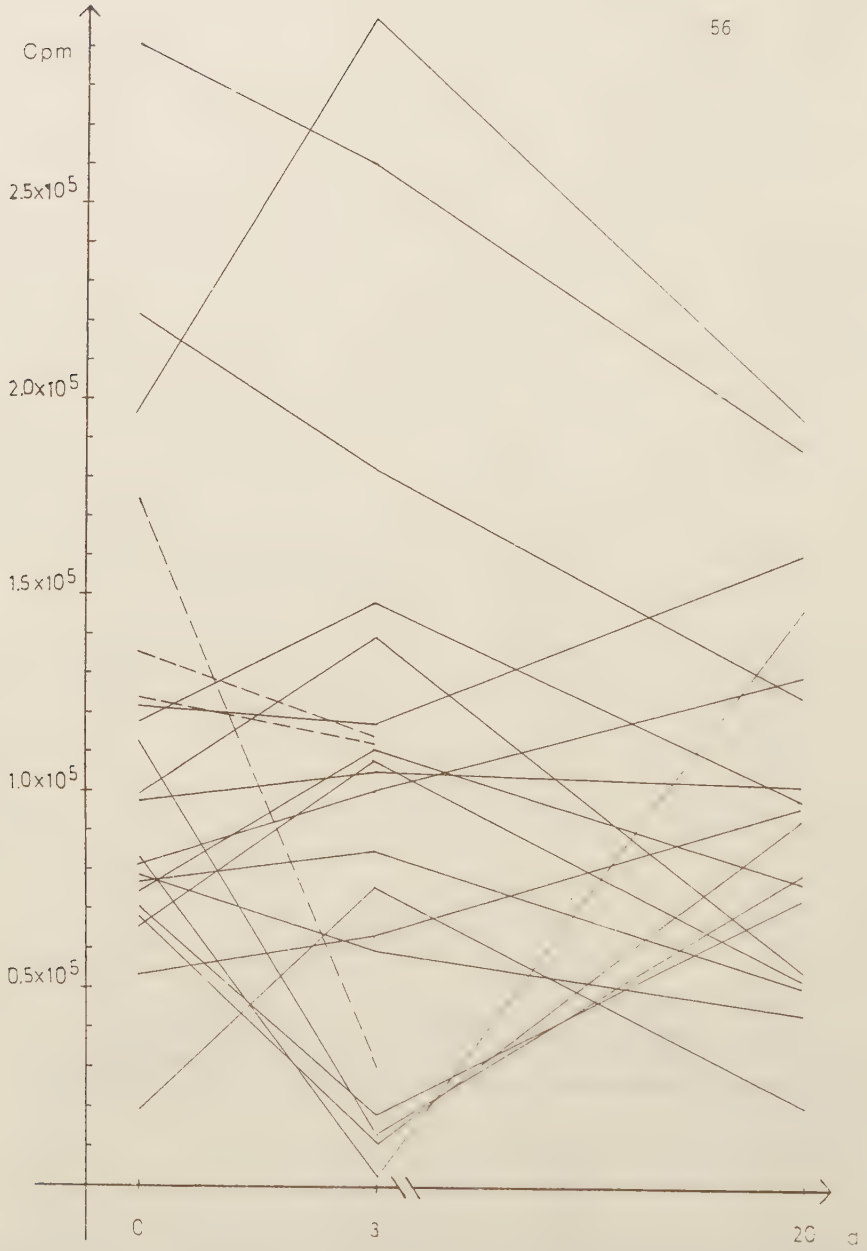

Abb. 16: Mitogenstimulation mit PHA_1 (0,2 µg) bei 21 mit Haloperidol behandelten Patienten.
Bei 3 Patienten (gestrichelte Linien) fehlt der Wert von Tag 20.

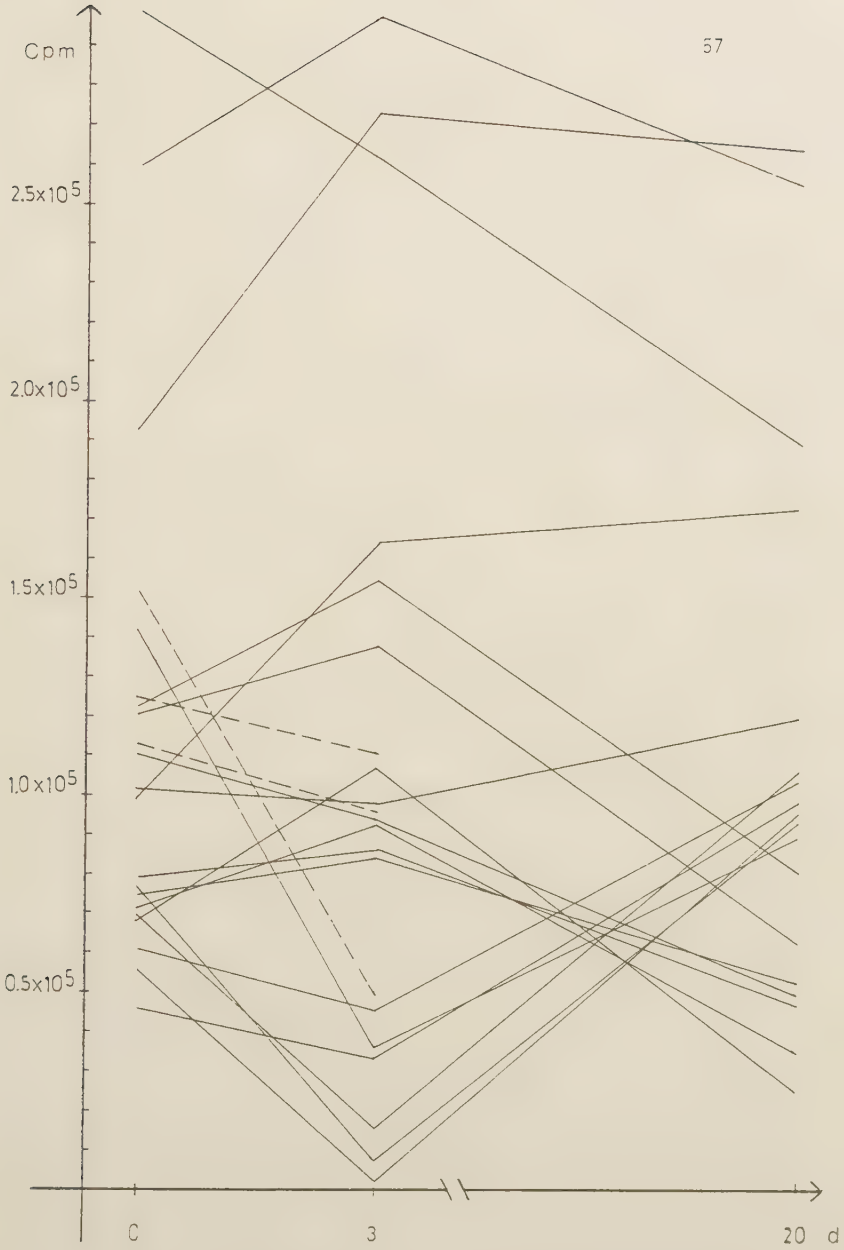

Abb. 17: Mitogenstimulation mit PHA_2 (0,4 µg) bei 21 mit Haloperidol behandelten Patienten.
Bei 3 Patienten (gestrichelte Linien) fehlt der Wert von Tag 20.

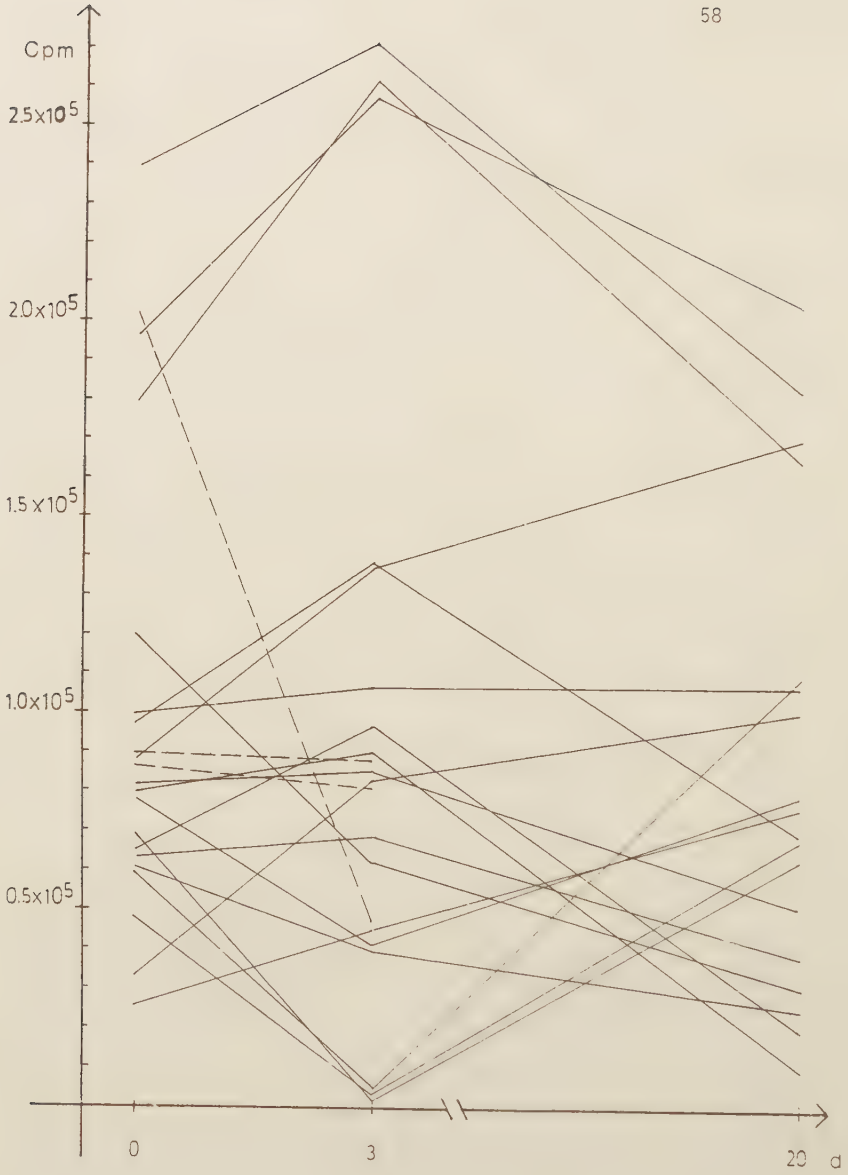

Abb. 18: Mitogenstimulation mit $ConA_1$ (2,0 µg) bei 21 mit Haloperidol behandelten Patienten.
Bei 3 Patienten (gestrichelte Linien) fehlt der Wert von Tag 20.

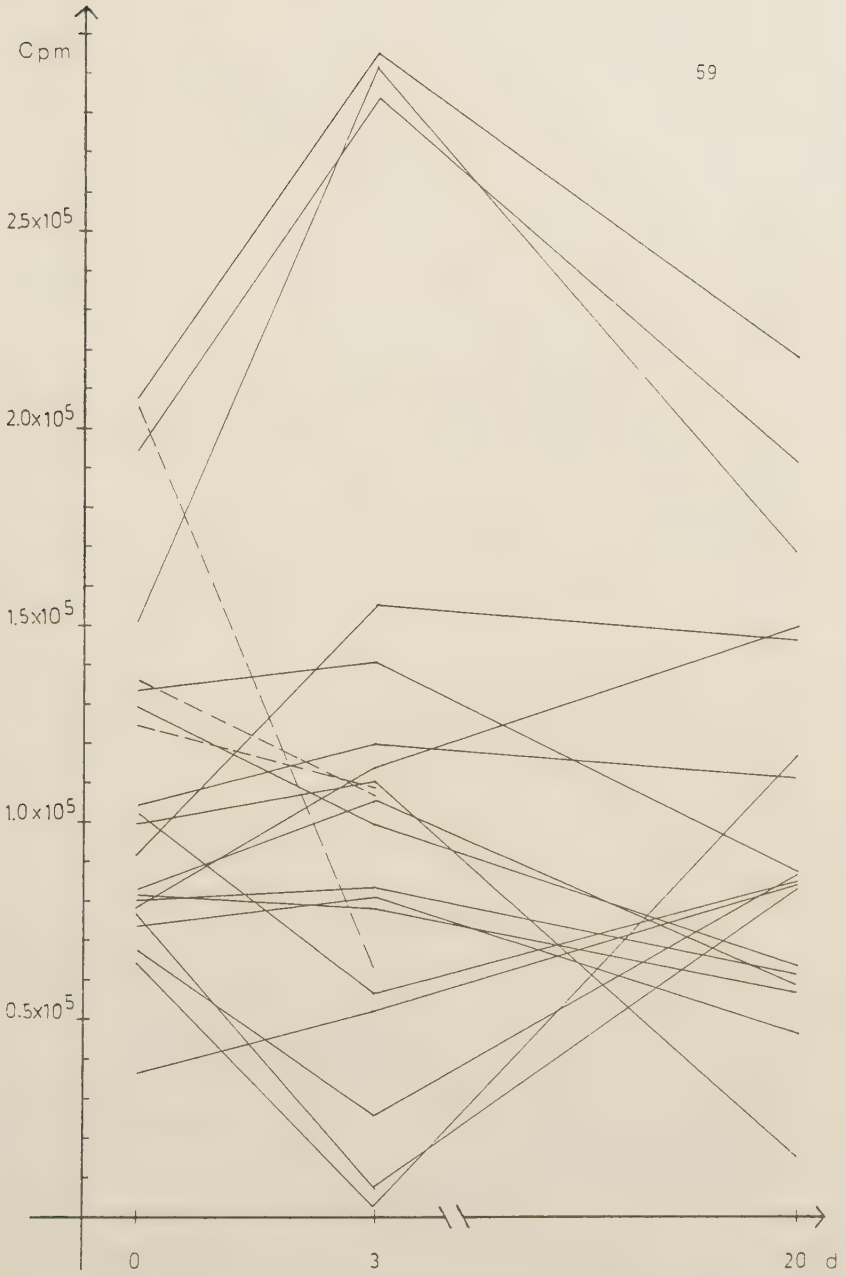

Abb. 19: Mitogenstimulation mit $ConA_2$ (2,0 µg) bei 21 mit Haloperidol behandelten Patienten.
Bei 3 Patienten (gestrichelte Linien) fehlt der Wert von Tag 20.

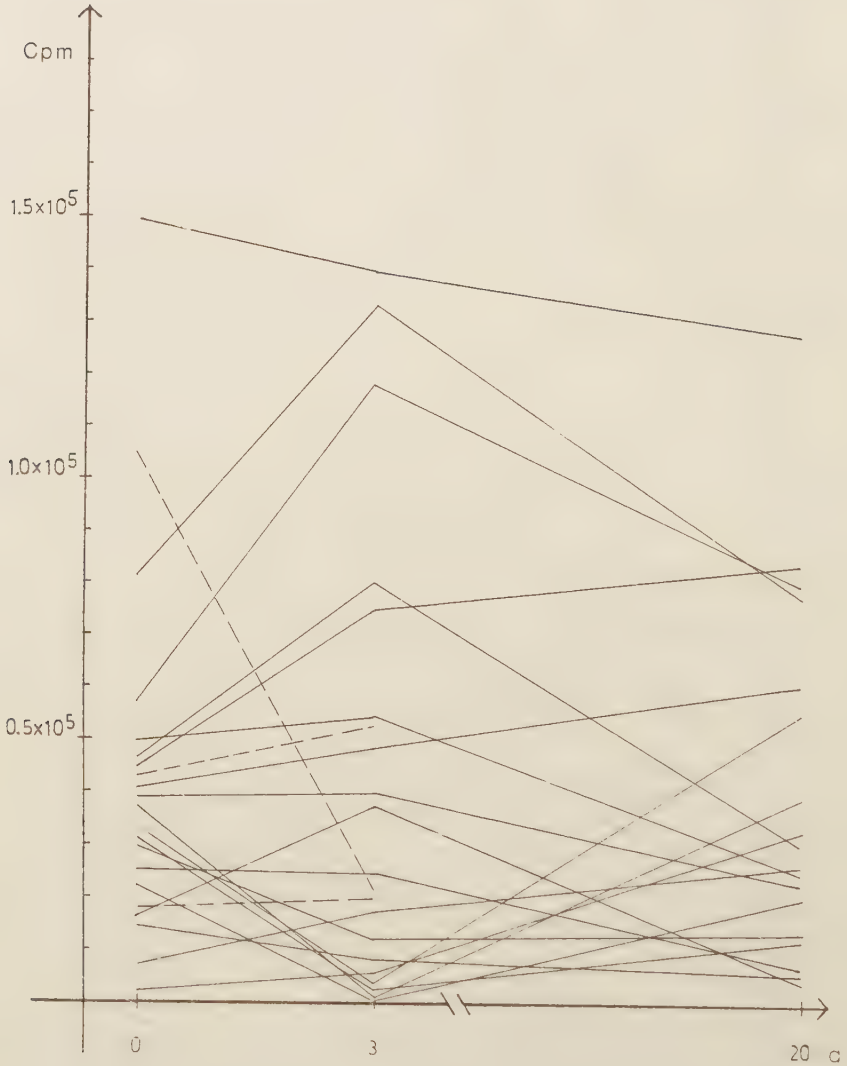

Abb. 20: Mitogenstimulation mit PWM_1 (0,5 µg) bei 21 mit Haloperidol behandelten Patienten.
Bei 3 Patienten (gestrichelte Linien) fehlt der Wert von Tag 20.

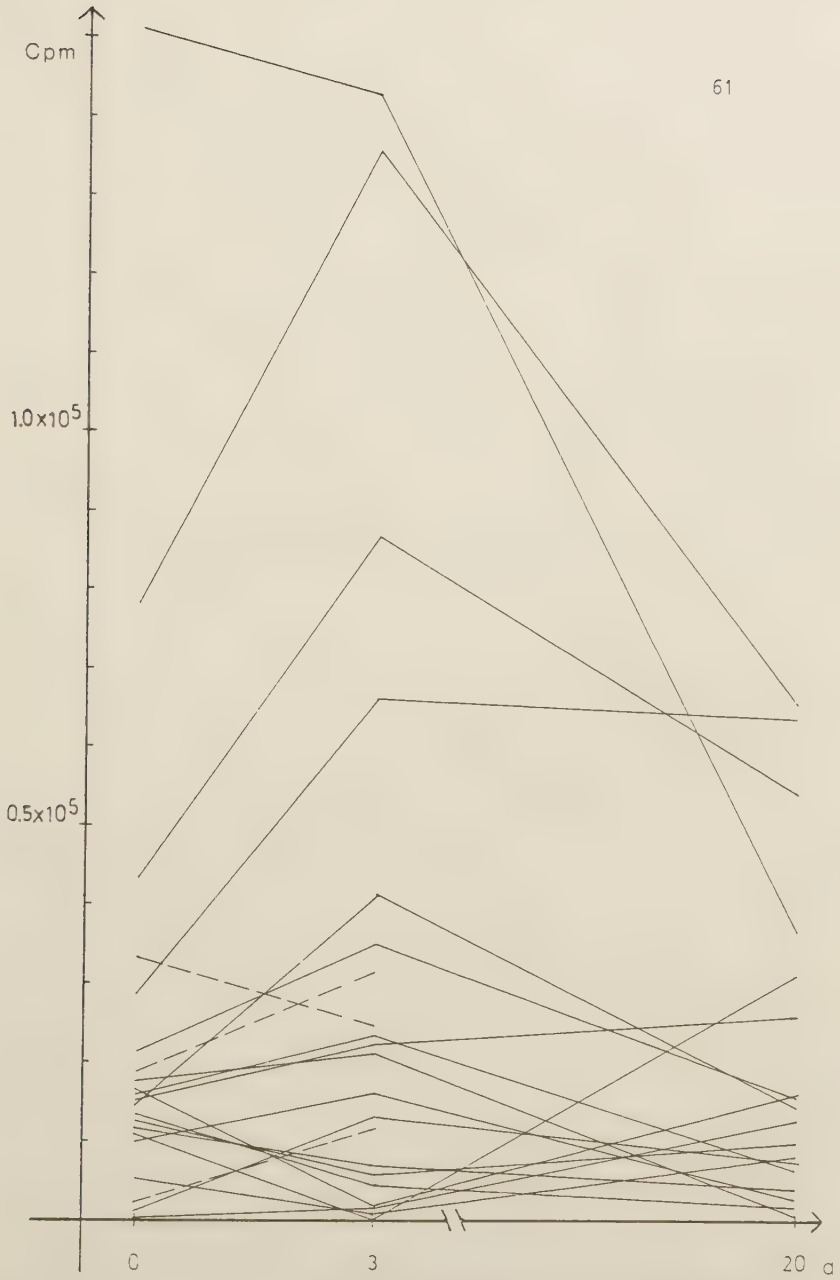

Abb. 21: Mitogenstimulation mit PWM_2 (1,0 µg) bei 21 mit Haloperidol behandelten Patienten.
Bei 3 Patienten (gestrichelte Linien) fehlt der Wert von Tag 20.

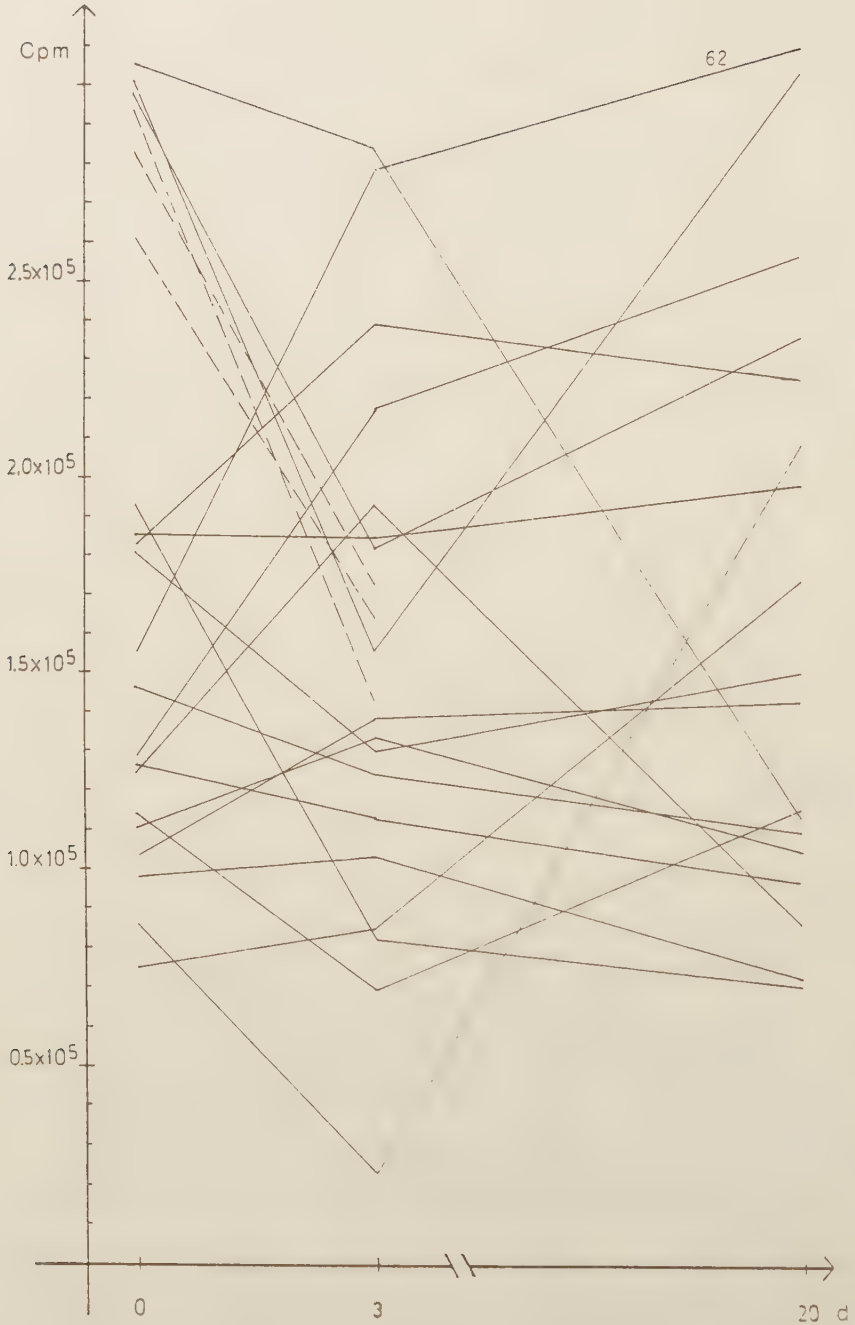

Abb. 22: Mitogenstimulation mit ATG_1 (1 : 16) bei 21 mit Haloperidol behandelten Patienten.
Bei 3 Patienten (gestrichelte Linien) fehlt der Wert von Tag 20.

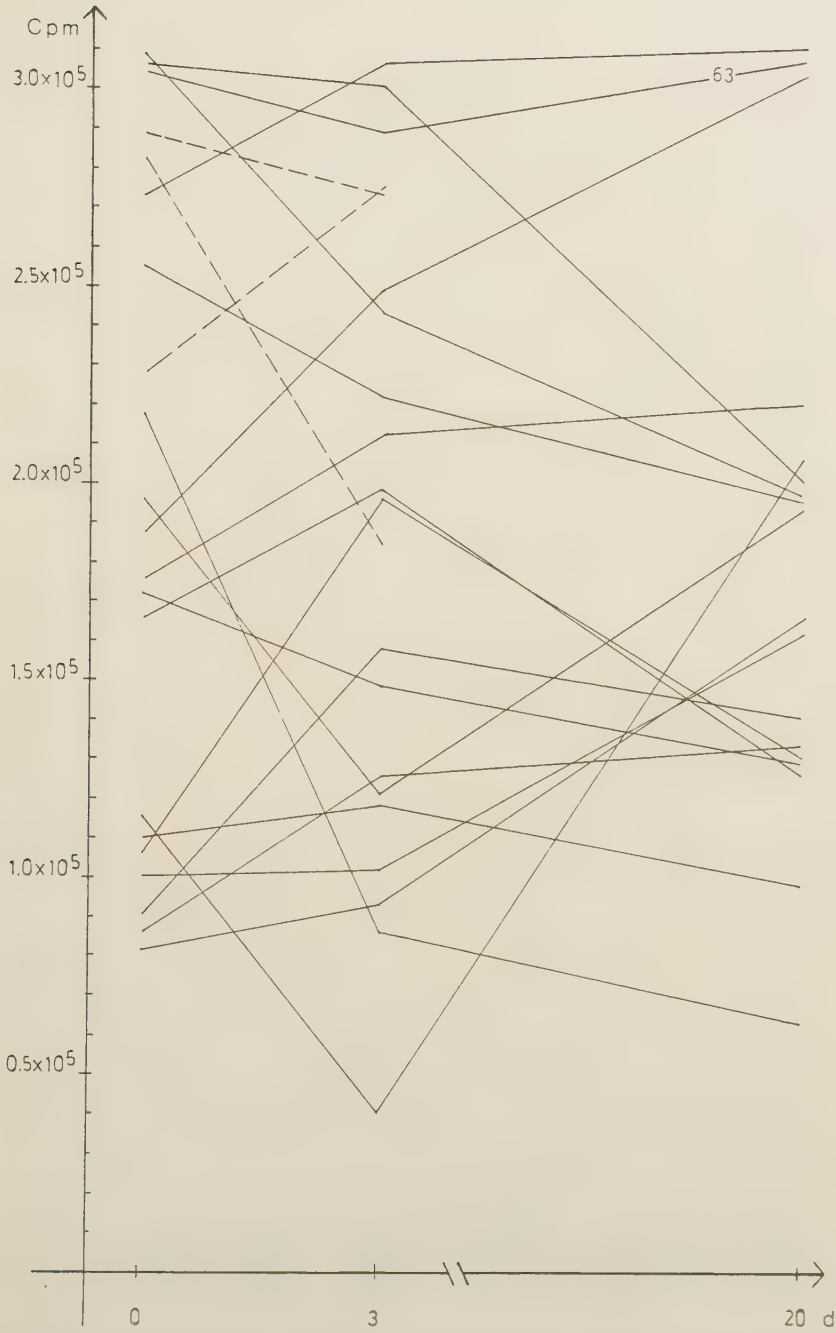

Abb. 23: Mitogenstimulation mit ATG_2 (1 : 32) bei 21 mit Haloperidol behandelten Patienten.
Bei 3 Patienten (gestrichelte Linien) fehlt der Wert von Tag 20.

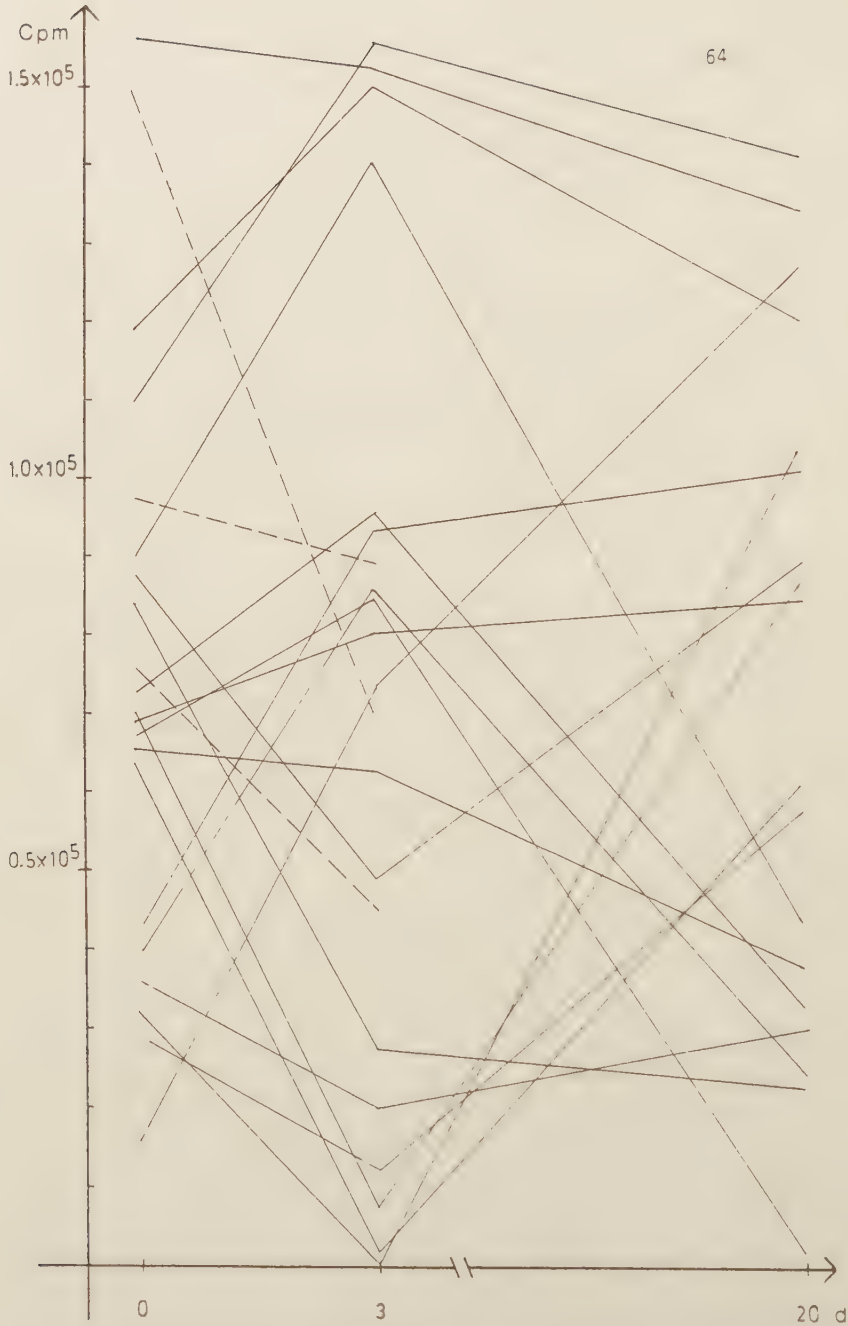

Abb. 24: Mitogenstimulation mit STE_1 (0,01 µg) bei 21 mit Haloperidol behandelten Patienten.
Bei 3 Patienten (gestrichelte Linien) fehlt der Wert von Tag 20.

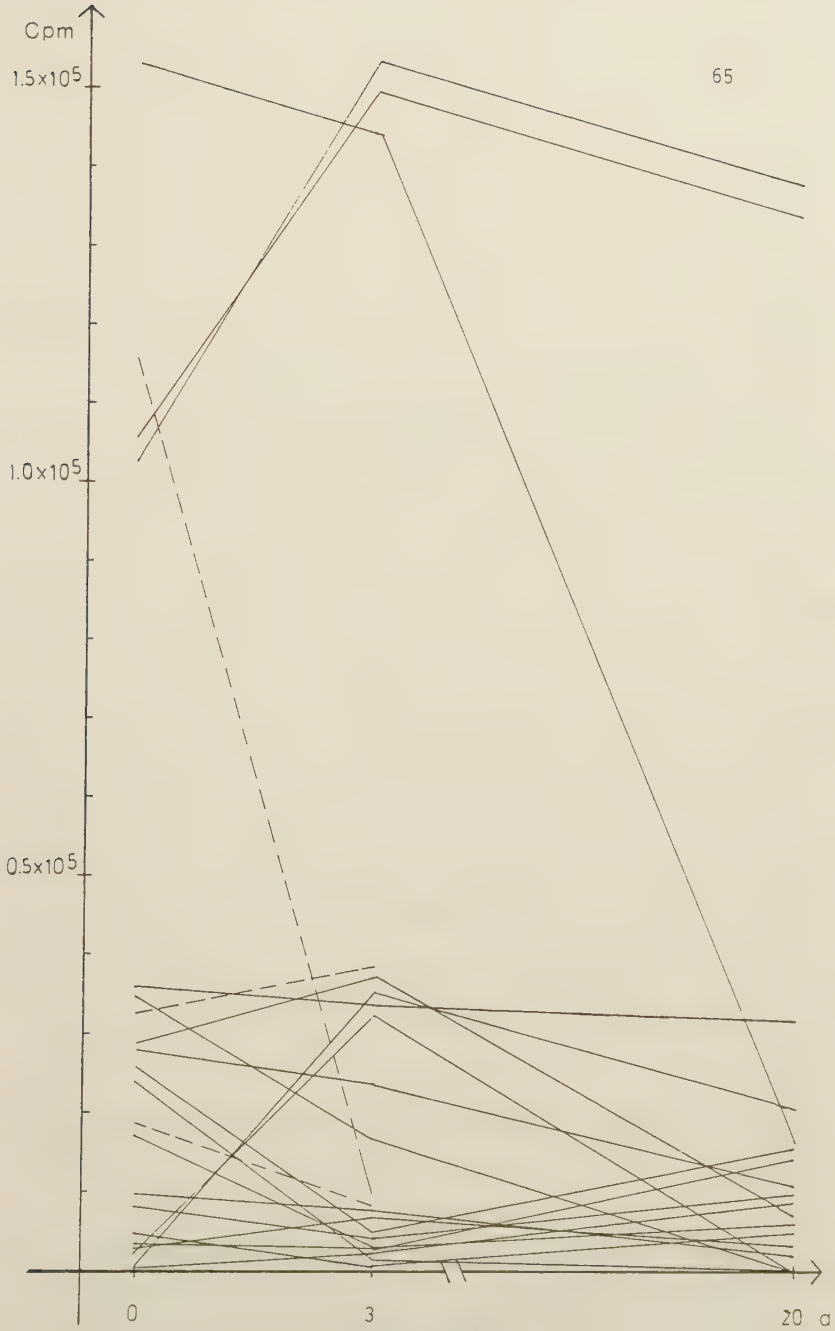

Abb. 25: Mitogenstimulation mit STE_2 (0,02 µg) bei 21 mit Haloperidol behandelten Patienten.
Bei 3 Patienten (gestrichelte Linien) fehlt der Wert von Tag 20.

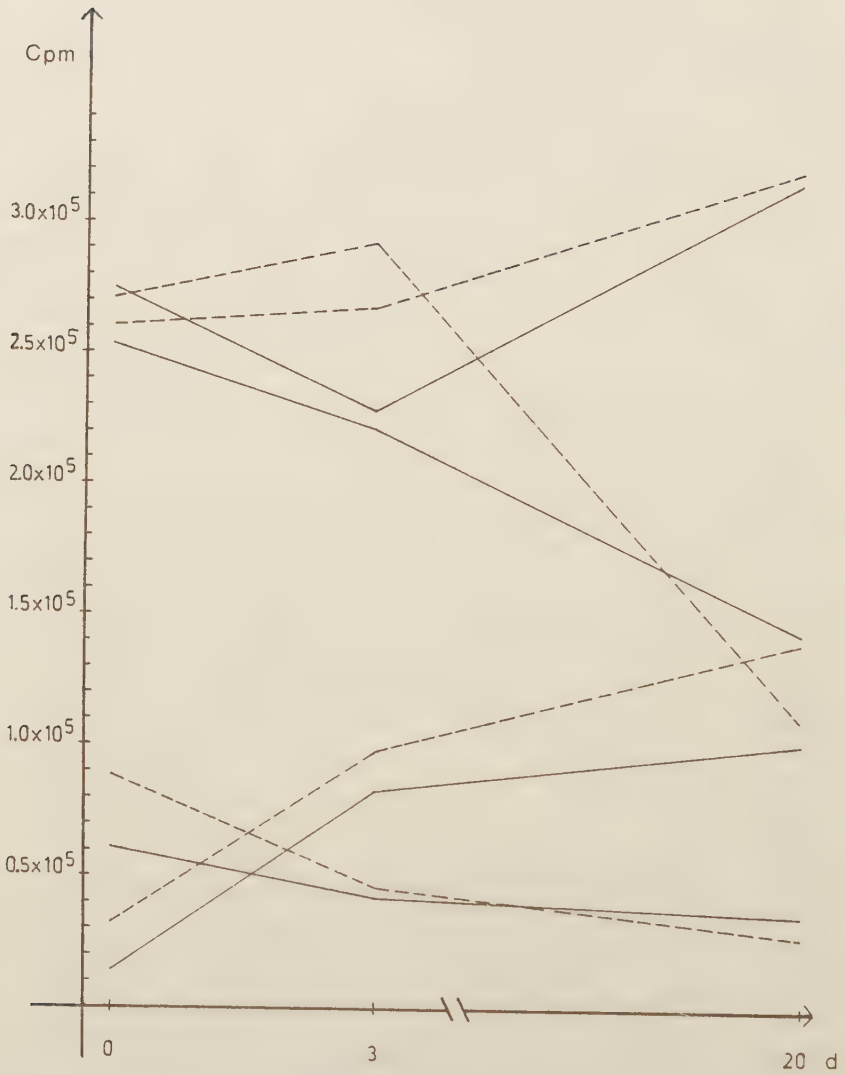

Abb. 26: Mitogenstimulation mit PHA bei vier mit Haloperidol/Taxilan behandelten Patienten.
PHA_1 (0,2 µg): durchgezogene Linien
PHA_2 (0,4 µg): gestrichelte Linien

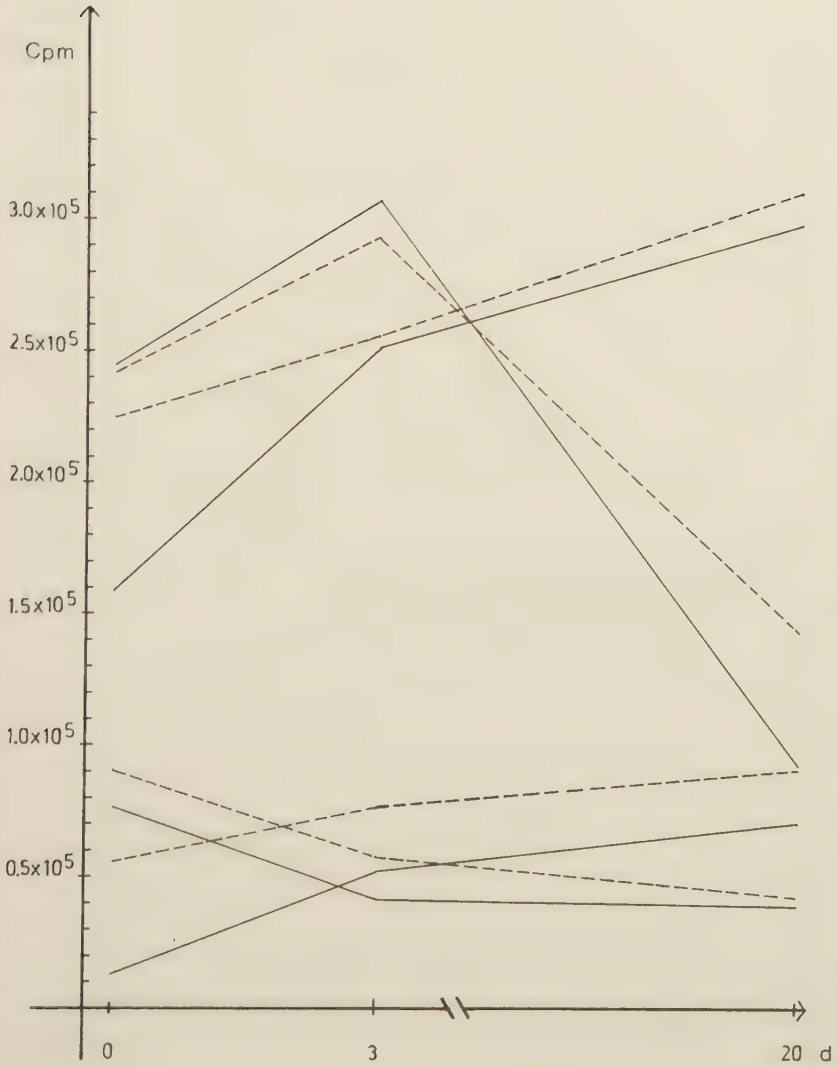

Abb. 27: Mitogenstimulation mit ConA bei vier mit Haloperidol/Taxilan behandelten Patienten.
$ConA_1$ (2,0 µg): durchgezogene Linien
$ConA_2$ (3,0 µg): Gestrichelte Linien

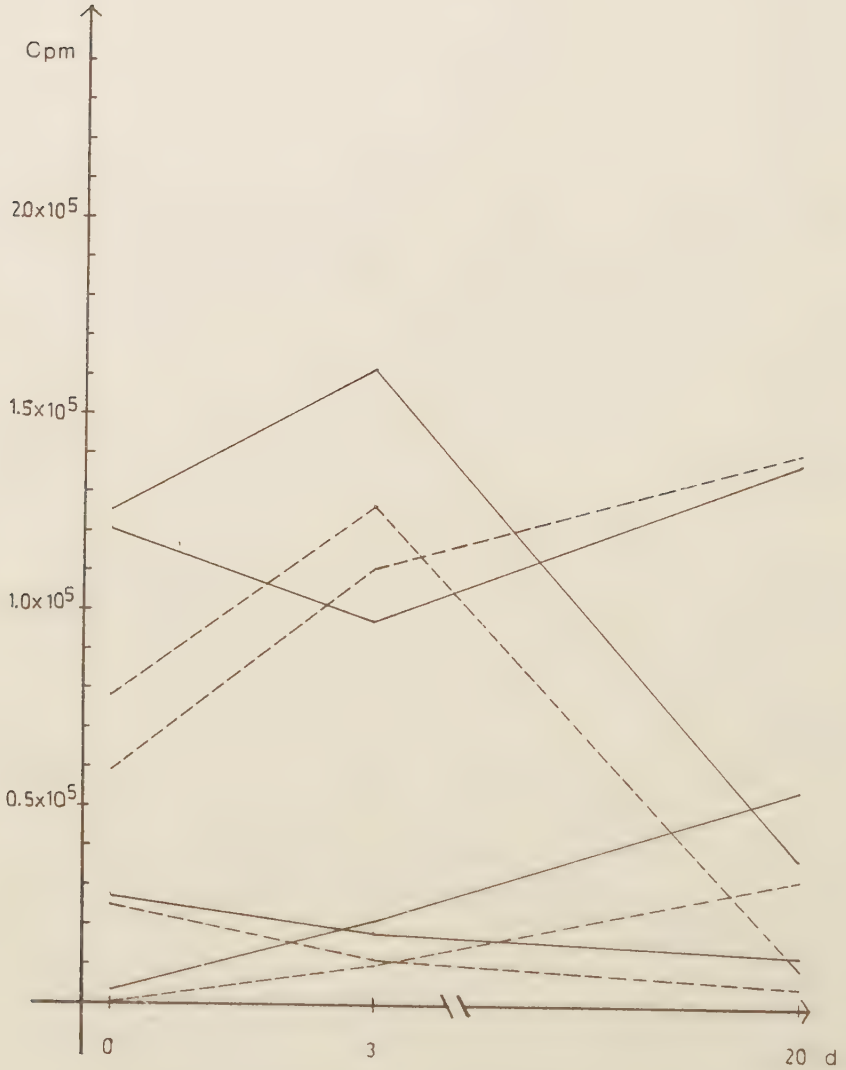

Abb. 28: Mitogenstimulation mit PWM bei vier mit Haloperidol/Taxilan behandelten Patienten.
PWM_1 (0,5 µg): durchgezogene Linien
PWM_2 (1,0 µg): gestrichelte Linien

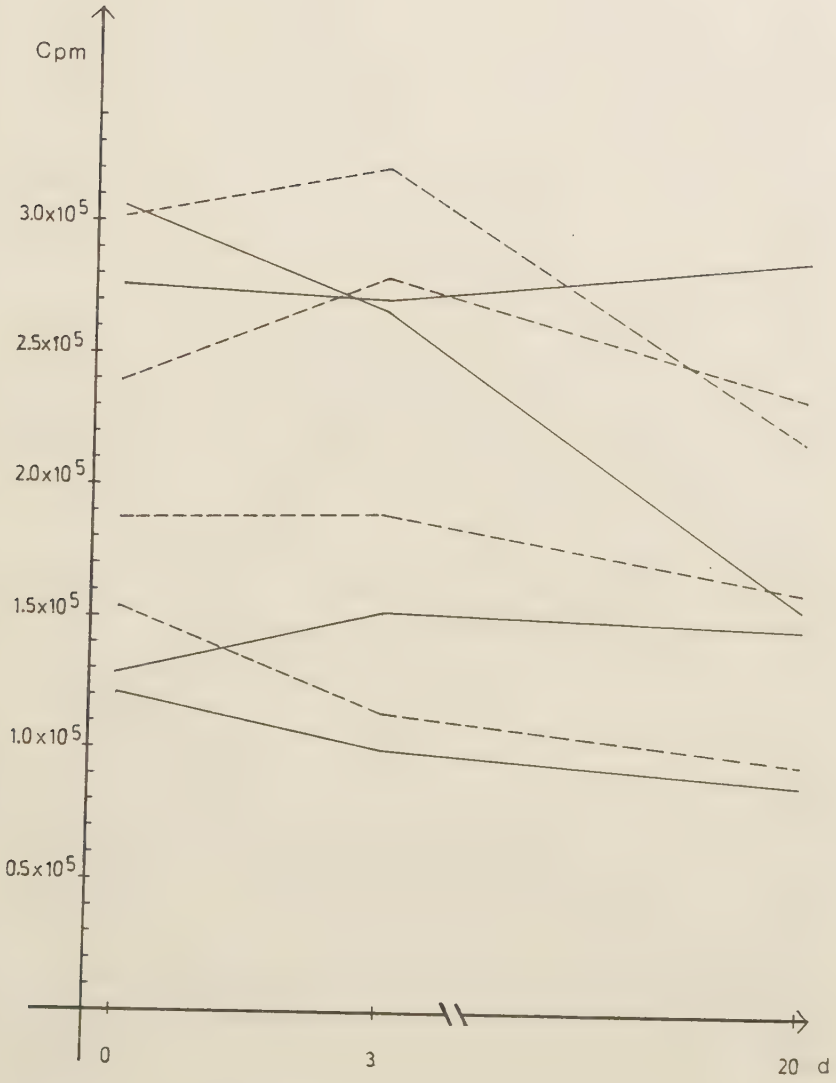

Abb. 29: Mitogenstimulation mit ATG bei vier mit Haloperidol/Taxilan behandelten Patienten.
ATG_1 (1 : 16): durchgezogene Linien
ATG_2 (1 : 32): gestrichelte Linien

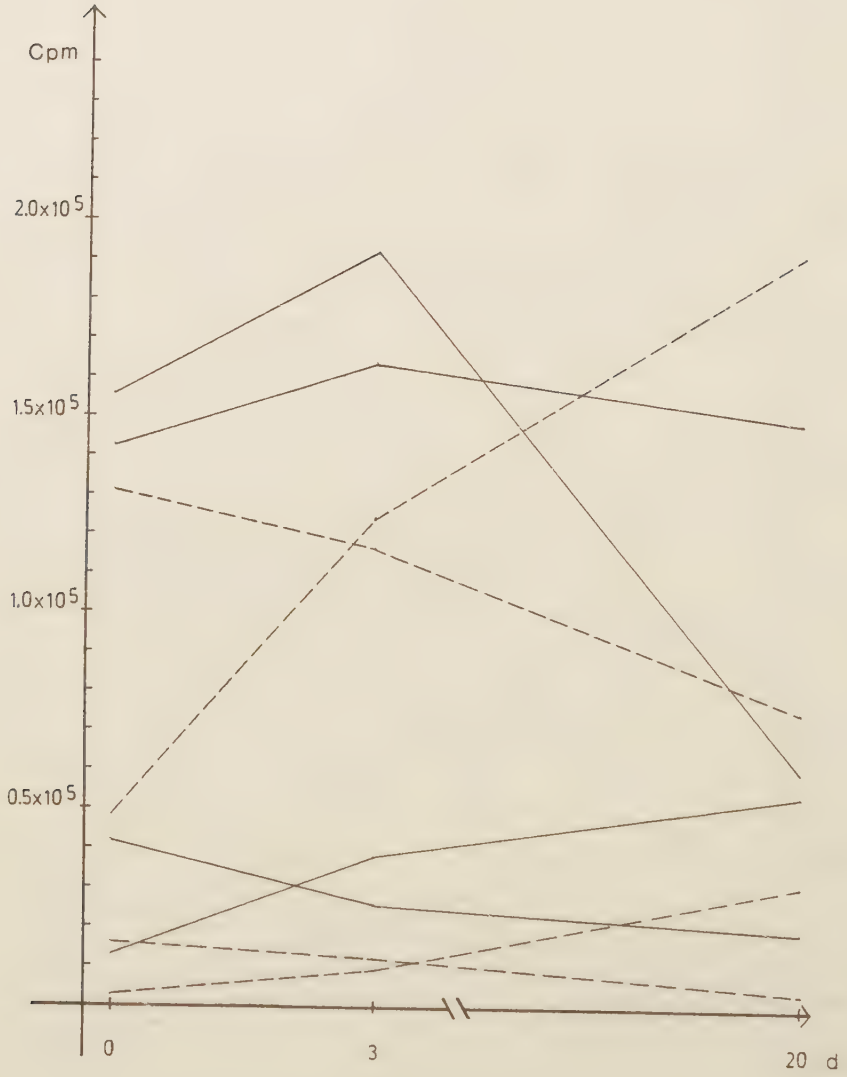

Abb. 30: Mitogenstimulation mit STE bei vier mit Haloperidol/Taxilan behandelten Patienten.
STE_1 (0,01 µg): durchgezogene Linien
STE_2 (0,02 µg): gestrichelte Linien

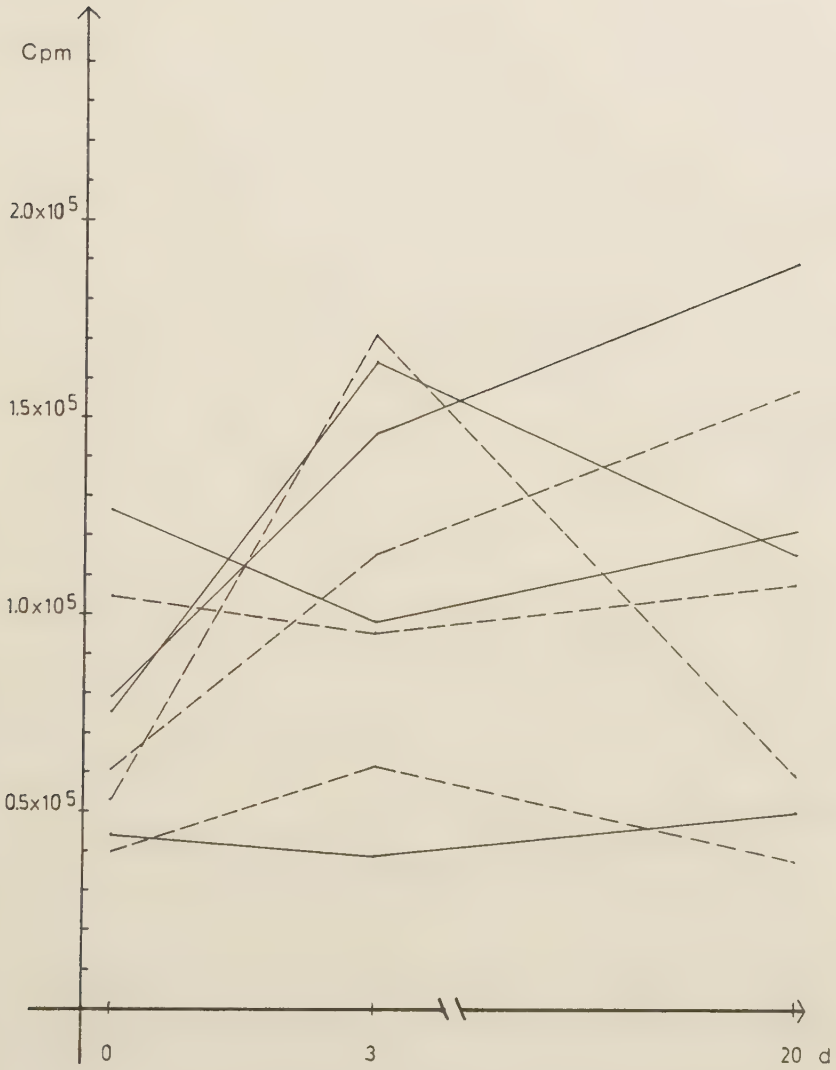

Abb. 31: Mitogenstimulation mit PHA bei vier mit Haloperidol/Neurocil behandelten Patienten.
PHA_1 (0,2 µg): durchgezogene Linien
PHA_2 (0,4 µg): gestrichelte Linien

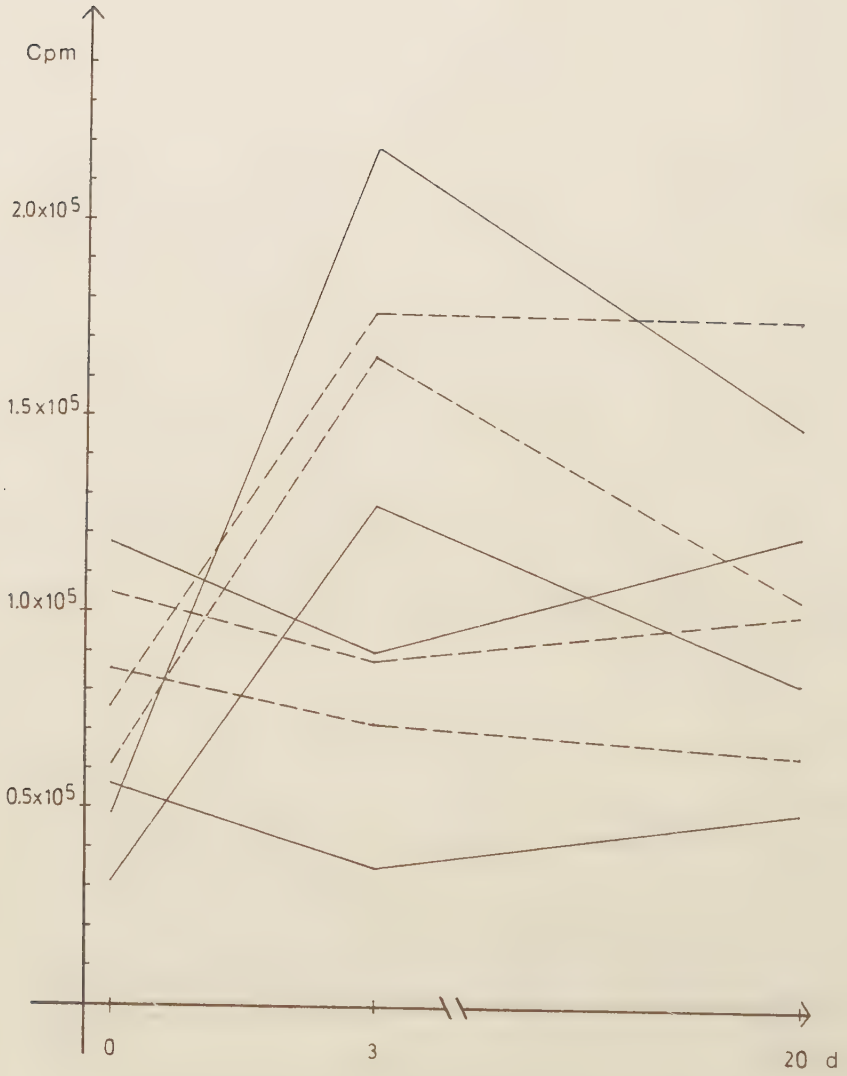

Abb. 32: Mitogenstimulation mit ConA bei vier mit Haloperidol/Neurocil behandelten Patienten.
$ConA_1$ (2,0 µg): durchgezogene Linien
$ConA_2$ (3,0 µg): gestrichelte Linien

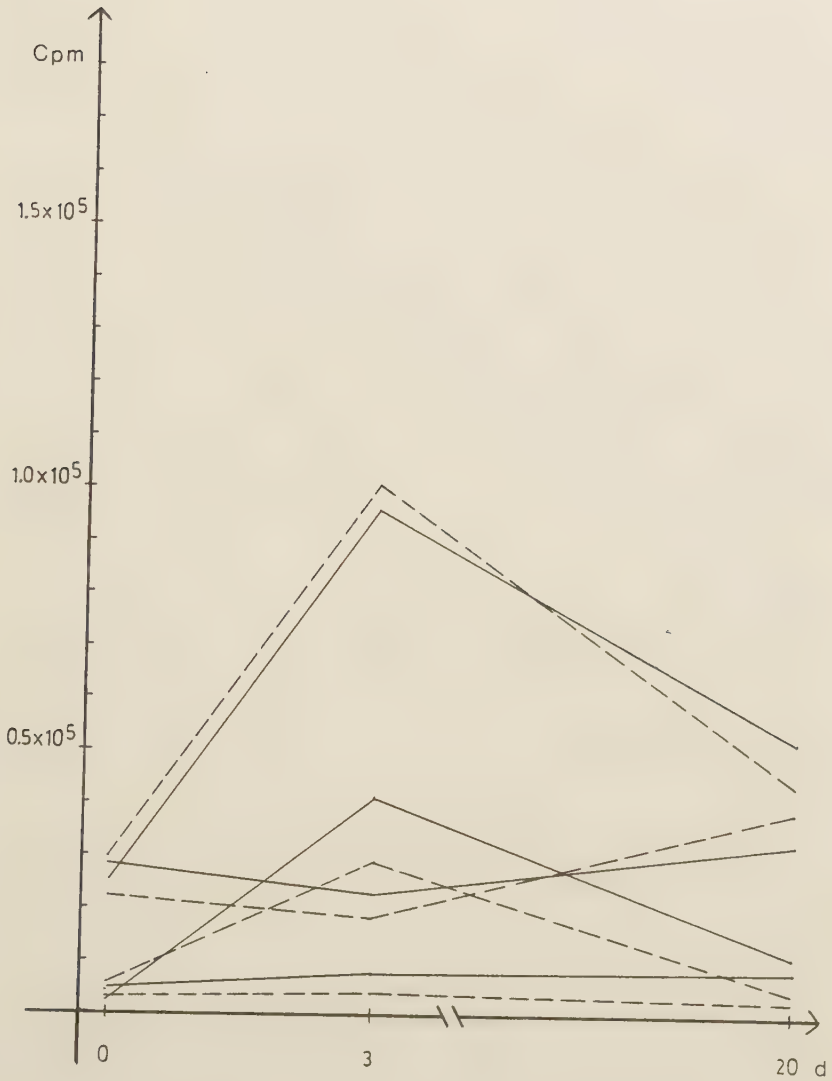

Abb. 33: Mitogenstimulation mit PWM bei vier mit Haloperidol/Neurocil behandelten Patienten.
PWM_1 (o,5 µg): durchgezogene Linien
PWM_2 (1,0 µg): gestrichelte Linien

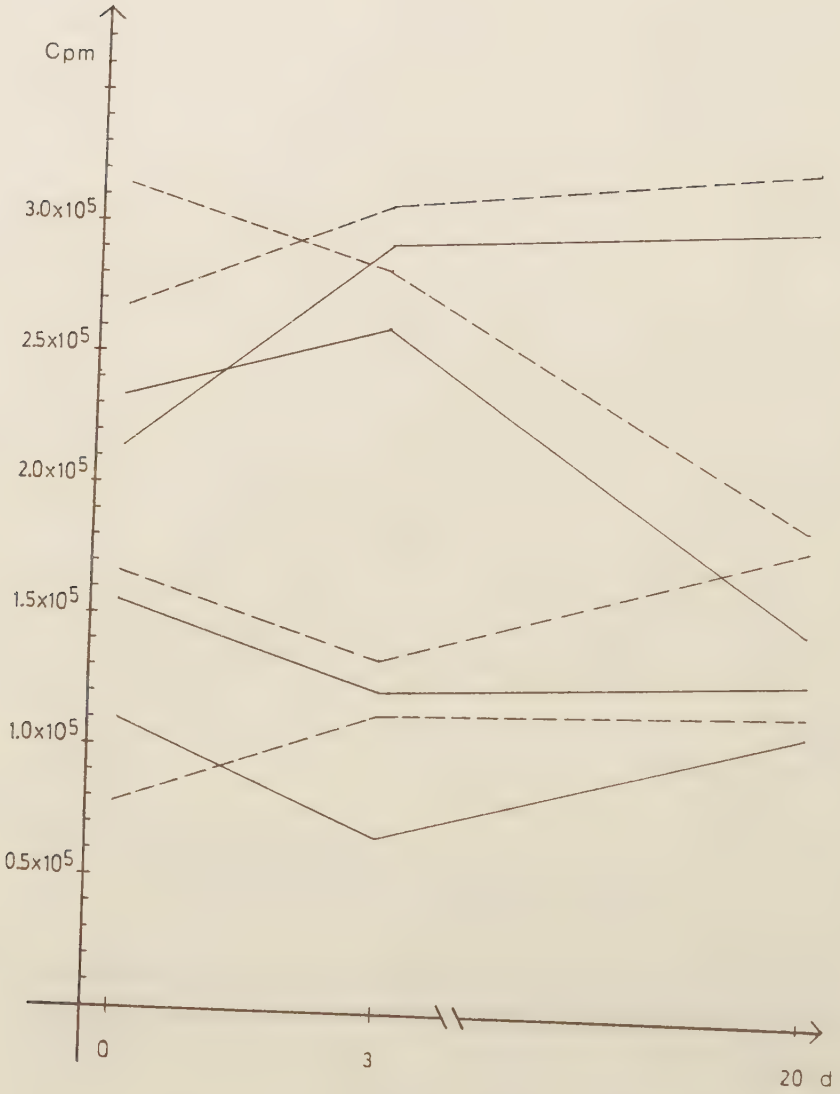

Abb. 34: Mitogenstimulation mit ATG bei vier mit Haloperidol/Neurocil behandelten Patienten.
ATG_1 (1 : 16): durchgezogene Linien
ATG_2 (1 : 32): gestrichelte Linien

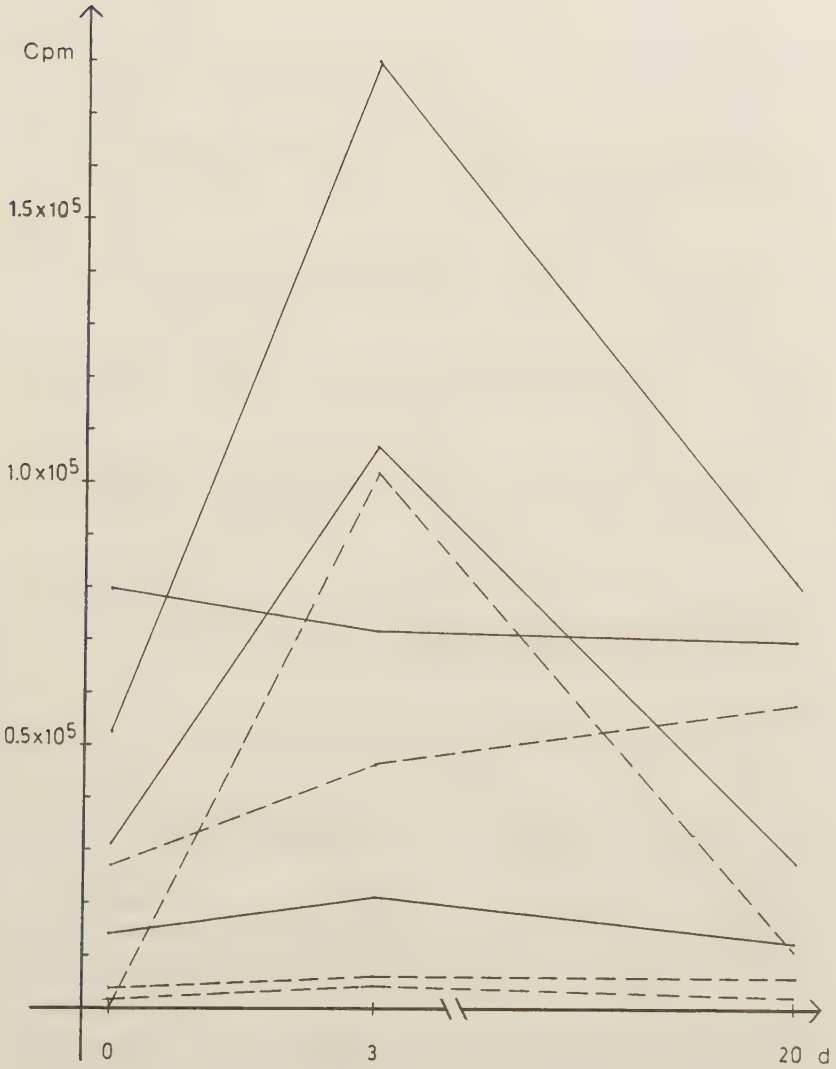

Abb. 35: Mitogenstimulation mit STE bei vier mit Haloperidol/Neurocil behandelten Patienten.
STE_1 (0,01 µg): durchgezogene Linien
STE_2 (0,02 µg): gestrichelte Linien

8. Literaturverzeichnis

1 Abdou, N.I., Zweiman, B. and Casella, S.R.:
Effects of azathioprine therapy on bone marrow-dependent and thymus-dependent cells in man.
Clin. Exp. Immunol. 13, 55-64 (1973)

2 Andersson, J., Möller, G. and Sjoberg, O.:
B lymphocytes can be stimulated by concanavalin A in the presence of humoral factors released by T cells.
Eur. J. Immunol. 2, 99 (1972)

3 Bain, B.:
Tritiated thymidin uptake in mixed leucocyte cultures: effect of specific activity and exposure time.
Clin. Exp. Immunol. 6, 255 (1970)

4 Baker, G.A., Santalo, R. and Blumenstein, J.:
Effect of psychotropic agents upon the blastogenic response of human T-lymphocytes.
Biol. Psychiatry 12, 159-169 (1977)

5 Barnes, E.W., Loudon, N.B., MacCuish, A.C., Jordan, J. and Irvine, W.J.:
Phytohaemagglutinin-induced lymphocyte transformation and circulating autoantibodies in women taking oral contraceptives.
The Lancet 11, 898-900 (1974)

6 Benkert, O., Hippius, H.:
Psychiatrische Pharmakotherapie.
Springer-Verlag (1974)

7 Birkeland, S.A.:
The immunological capacity of peripheral lymphocytes in a blast-transformation system using frozen-stored cells.
Cryobiology 13, 433-441 (1976)

8 Blomgren, H.:
Steroid sensitivity of the response of human lymphocytes to Phytohemagglutinin and Pokeweed Mitogen: Role of phagocytic cells.
Scand. J. Immunol. 3, 655-664 (1974)

9 Boyum, A.:
Separation of leucocytes from blood and bone marrow.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 21, 97 (1968)

10 Cohnen, G., Augener, W., Reuter, A. and Brittinger, G.:
Peripheral blood T and B lymphocytes in men in different age groups.
Z. Immun. Forsch. 149, 463-468 (1975)

11 Cooper, E.H., Barkhan, P. and Hale, A.J.:
Mitogenic activity of phytohaemagglutinin.
The Lancet 2, 210 (1961)

12 McCreadie, R.G. and MacDonald, I.M.:
High dosage Haloperidol in Chronic schizophrenia.
British Journal of Psychiatry 131, 310-316 (1977)

13 Crout, J.E., Hepburn, B. and Ritts, R.E.:
Suppression of lymphocyte transformation after ingestion of aspirin.
N. Engl. J. Med. 292, 221 (1975)

14 Davis, J.C. and Hipkin, L.J.:
Depression of lymphocyte transformation in women taking oral contraceptives.
The Lancet 2, 217 (1974)

15 Delespesse, G., Duchateau, J., Bastenie, P.A., Lauvaux, J.P., Collet, H. and Govaerts, A.:
Cell-mediated immunity in diabetes mellitus.
Clin. Exp. Immunol. 18, 461-467 (1974)

16 Eijsvoogel, V.P., Du Bois, M.J.G.J., Schellekens, P.Th.A. and Van Loghem, J.J.:
The stimulating and suppressive properties of anti-lymphocyte serum (ALS) on lymphcyte transformation in vitro.
Transplant. Proc. 1, 408-412 (1969)

17 Eskola, J., Frey, H., Molnar, G. and Soppi, E.:
Biological rhythm of cell-mediated immunity in man.
Clin. Exp. Immunol. 26, 253-257 (1976)

18 Farnes, P., Barker, B.E. and Brownhill, L.E.:
Mitogenic activity in phytolacca americana (pokeweed)
The Lancet 2, 1100 (1964)

19 Fauci, A.S.:
Mechanisms of corticosteroid action on lymphocyte subpopulations. I. Redistribution of circulating T and B lymphocytes to the bone marrow.
Immunology 28, 669 (1975)

20 Fauci, A.S.:
Mechanisms of corticosteroid action on lymphocyte subpopulations. II. Differential effects on in vivo hydrocortisone, prednisone and dexamethasone on in vitro expression of lymphcyte function.
Clin. Exp. Immunol. 24, 54-62 (1976)

21 Gabourel, J.G., Davies, G.H. and Rittenberg, M.B.:
Effects of salicylate and phenobarbital on lymphocyte proliferation and function.
Clinical Immunology and Immunopathology 7, 53-61 (1977)

22 Goldschneider, J. and Cogen, R.D.:
Immunoglobulin molecules on the surface of activated T-lymphocytes in the rat.
J. Exptl. Med. 138, 163 (1973)

23 Goodwin, J.S., Selinger, D.S., Messner, R.P. and Reed, W.P.:
Effect of indomethacin in vivo on humoral and cellular immunity in humans.
Infect. Immun. 19 (2), 430-433 (1978)

24 Greaves, M. and Janossy, G.:
Elicitation of selective T and B lymphocyte responses by cell surface binding ligands.
Transplant. Rev. 11, 87 (1972)

25 Grosse-Wilde, H.:
Genetik des HLA-D Systems und seine Beziehung zu Krankheiten.
Habilitationsschrift Universität München (1977)

26 Harrison, M.R., Thurman, G.B. and Thomas, G.M.:
A simple and versatile harvesting device for processing radioactive label incorporated into and/or released from cells in microculture.
Journal of Immunological Methods 4, 11-16 (1974)

27 Heilman, D.H., Gambrill, M.T. and Leichner, J.P.:
The effect of hydrocortisone on the incorporation of tritiated thymidine by human blood lymphocytes cultured with phytohaemagglutinin and pokeweed mitogen.
Clin. Exp. Immunol. 15, 203 (1974)

28 Hirschberg, H. and Thorsby, E.:
The role of serum in human mixed lymphocyte cultures.
Cellular Immunology 16, 115-124 (1975)

29 Howard, J.S.:
Haloperidol for chronically hospitalized psychotics: a double blind comparison with thiothixene and placebo: a follow up open evaluation.
Diseases of the Nervous System 35, 458-463 (1974)

30 Janossy, G., Greaves, M.F., Doenhoff, M.J. and Snajdr, J.:
Lymphocyte activation V. Quantitation of the proliferative response to mitogens using defined T and B cell populations.
Clin. Exp. Immunol. 14, 581 (1973)

31 McKinney, A.A. and Vyas, R.:
The essay of diphenylhydantoin effects on growing human lymphocytes.
J. Exp. Ther. 186, 37 (1973)

32 Knight, S.C., Farrant, J. and Morris, G.J.:
Separation of populations of human lymphocytes by freezing and thawing.
Nature New Biol. 239, 88 (1972)

33 Lovelock, J.E. and Bishop, M.W.:
II. Prevention of freezing damage to living cells by dimethyl sulfoxide.
Nature 183, 1394-1395 (1959)

34 Mackler, B.F.:
Effects of Concanavalin A on human lymphoid cell lines and normal peripheral lymphocytes.
Journal of the National Cancer Institute 49, 935-941 (1972)

35 DiMascio, A. and Shader, R.I.:
Butyrophenones on psychiatry.
Reven Press, Publishers, New York (1972)

36 Nowell, P.C.:
Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in cultures of normal human leucocytes.
Cancer Res. 20, 462-466 (1960)

37 Özek, M., Töreci, K., Akkök, I. and Güvener, Z.:
Die Wirkung der Neuroleptikabehandlung auf die Antikörperbildung.
Psychopharmacologia 21, 401-412 (1971)

38 Opelz, G., Terasaki, P.I. and Herata, A.A.:
Suppression of lymphocyte transformation by aspirin.
The Lancet 2, 478 (1973)

39 Perper, R.J. and Mickelson, M.M.:
Purification of lymphcytes and platelets by gradient centrifugation.
J. Lab. Clin. Med. 72, 842 (1968)

40 Phillips, B. and Weisrose, E.:
The mitogenic response of human B lymphocytes to Phytohaemagglutinin.
Clin. Exp. Immunol. 16, 383-392 (1974)

41 Polet, H. and Spieker-Polet, H.:
Mechanism of the groth-promoting effect of serum albumin on Concanavalin A-activated lymphocytes: Protective effect of the plasma proteins.
The Journal of Immunology Vol. 117, No. 4, 1275-1281 (1976)

42 Powell, A.E. and Leon, M.A.:
Reversible interaction of human lymphocytes with the mitogen Concanavalin A.
Experimental Cell Research 62, 315-325 (1970)

43 Revillard, J.P. and Traeger, I.:
Selective deficiency of cell-mediated immunity in humans treated with antilymphocytes globulins.
Transplant. Proc. 3, 725-729 (1971)

44 Ringdén, C. and Rynnel-Dagöö, B.:
Activation of human B and T lymphocytes by protein A of Staphylococcus aureus.
Eur. J. Immunol. 8, 47-52 (1978)

45 Rodt, H., Thierfelder, S. Thiel, E. Götze, D. Netzel, B., Huhn, D. and Eulitz, M.:
Identification and quantitation of human T-cell antigen by antisera purified from antibodies crossreacting with hemopoietic progenitors and other blood cells.
Immunogenetics 2, 411-430 (1975)

46 Röllinghoff, M., Schrader, J. and Wagner, H.:
Effect of azathioprine and cytosine arabinoside on humoral and cellular immunity in vitro.
Clin. Exp. Immunol. 15, 261-269 (1973)

47 Ruppelt, W., Grosse-Wilde, H. and Netzel, B.:
Computer program for the evaluation and interpretation of MLC data.
Z. Immunol. Forsch. 152, 293-296 (1976)

48 Sachs, L.:
Angewandte Statistik.
Springer-Verlag, 422-429 (1974)

49 Schellekens, P.Th.A. and Eijsvoogel, V.P.:
Lymphocyte transformation in vitro
I. Tissue culture conditions and quantitative measurements.
Clin. Exp. Immunol. 3, 571-584 (1968)

50 Schulte,W., Tölle, R.:
Psychiatrie.
Springer-Verlag, S. 204 (1977)

51 Shortmann, K., Byrd, N.J., Cerottini, J.C. and Brunner, K.T.:
Characterisation and separation of mouse lymphocyte subpopulation responding to PHA and PWM.
Cell. Immunol. 6, 25 (1973)

52 Sorell, T.C., Forbes, I.J., Burnes, F.R. and Rischbieth, R.H.C.:
Depression of immunological function in patients treated with phenytoin sodium (Sodium DIPHENYLHYDANTOIN)
The Lancet 2, 1233 (1971)

53 Sumner, J.B.:
The globulins of the jack bean Canavalia ensiformis.
J. Biol. Chem. 37, 137 (1919)

54 Tavadia, H.B., Fleming, K.A., Hume, P.D. and Simpson, H.W.:
Circadian rhythmicity of human plasma cortisol and PHA-induced lymphocyte transformation.
Clin. Exp. Immunol. 22, 190 (1975)

55 Thierry, C., Turc, J.M., Valles, H. and Serrou, B.:
Routine technique of lymphocyte cryopreservation evaluated by in vitro tests of immune response.
Europ. J. Cancer 13, 367-371 (1977)

56 Thomson, A.E.R. and O'Connor, T.W.E.:
Observations on cryopreservations of lymphocytes in chronic lymphocytic leukaemia and normal human lymphocytes.
Scand. J. Haemat. 8, 425-438 (1971)

57 Trancheva, M.:
Comparative study of the effect of haloperidol and maptil on the karyotype and immunoproliferative response of lymphocytes.
Eksp. Med. Morfol 15 (3), 181-187 (1976)

58 Webel, M.L., Ritts, R.E., Taswell, H.F., Donadio, J.V. and Woods, J.E.:
Cellular immunity after intravenous administration of methylprednisolone.
J. Lab. Clin. Med. 83, 383 (1974)

59 Weber, W.T.:
Direct evidence for the response of B and T cells to PWM.
Cell. Immunol. 9, 482 (1973)

60 Weiner, R.S.:
Cryopreservation of lymphocytes for use in-vitro assays of cellular immunity.
Journal of Immunological Methods 10, 49-60 (1976)

61 Wybran, J., Chantler, S. and Fudenberg, H.H.:
Human blood T cells: response to PHA.
J. Immunol. 110, 1157 (1973)

62 Yamamura, M.:
Standardisation of lymphocyte transformation to phytohaemagglutinin.
Clin. Exp. Immunol. 14, 457-467 (1973)

63 Younkin, L.H.:
In vitro response of lymphocytes to phytohaemagglutinin (PHA) as studied with antiserum to PHA.
Exp. Cell. Res. 90, 374-380 (1975)

64 Yu, D.T.Y., Clements, P.J., Paulus, H.E., Peter, J.B., Levy, J. and Barnett, E.V.:
Human lymphocyte subpopulations. Effect of corticosteroids.
J. Clin. Invest. 53, 565 (1974)

9. Lebenslauf

Am 28.7.1953 wurde ich in Ingolstadt als viertes Kind des Diplom-Ingenieurs Richard Baumgartner und seiner Ehefrau Maria geb. Kreil geboren.
Von 1960 bis 1964 besuchte ich die Grundschule auf der Schanz in Ingolstadt und wechselte anschließend an das hiesige Christoph-Scheiner-Gymnasium, wo ich am 8.6.1973 im neusprachlichen Zweig die Reifeprüfung bestand.

Nach Ableistung meiner 15-monatigen Bundeswehrzeit als Sanitäter in Neuburg/Donau begann ich im Wintersemester 1974 das Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilian-Universität in München.
Am 27.8.1976 bestand ich die Ärztliche Vorprüfung, am 26.8.1977 den Ersten Teil und am 14.3.1980 den Zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung.